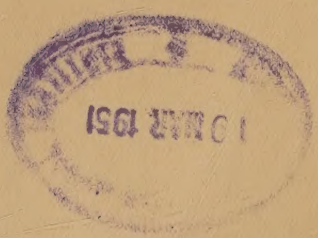
АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XIX. ВЫП. 5

СЕНТЯБРЬ—ОКТЯБРЬ



ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1950

МИКРОБИОЛОГИЯ

Редактор чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий

Секретарь Я. И. Раутенштейн

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

А. Ф. Войткевич, Н. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников, В. Н. Шапошников

ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ «МИКРОБИОЛОГИЯ» ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, Б. ЧЕРКАССКИЙ ПЕР., 2, КОНТОРА «АКАДЕМКНИГА».

Рукописи направлять по адресу:
Москва, Волхонка, 14, Издательство Академии Наук СССР,
редакция журнала «Микробиология»

ДЕНИТРИФИКАЦИЯ ЗА СЧЕТ БИТУМА И ДРУГИХ УГЛЕВОДОРОДОВ

И. Л. Работнова, М. В. Улубекова и *Л. В. Магнитская*

Разрушение всевозможных углеводородов бактериями путем окисления их кислородом воздуха широко распространено в природе. Этому вопросу посвящена большая микробиологическая литература (обзорные статьи Осницкой [3]; ZoBell [11]).

Разрушение углеводородов в анаэробных условиях путем окисления их связанным кислородом также хорошо известно. В большинстве случаев исследователи этого вопроса имели дело с десульфурирующими бактериями, окисляющими углеводороды кислородом сульфатов (Таусон [6]; Таусон и Веселов [7]; Рубенчик [4]; Novelli и ZoBell [9]; Rosenfeld [10] и др.). Относительно окисления углеводородов в процессе денитрификации данных в литературе очень мало. Имеются лишь общие указания на возможность этого процесса. ZoBell [11] отмечает, что источник кислорода для разрушителей углеводородов безразличен, они могут окислять кислородом воздуха в аэробных условиях, а при недостатке последнего могут использовать кислород из SO_4'' или No_3'. То же отмечает Таусон [5] и Bushnell и Haas [8]. Однако экспериментального материала по денитрификации за счет углеводородов указанные авторы не приводят. Малиянц [2] наблюдала исчезновение нитратов в накопительных культурах десульфурирующих бактерий на нефти, которое она приписывает деятельности спутников Microspira, разрушающих нефть в процессе денитрификации. Этим исчерпываются известные нам данные о денитрификации на углеводородах. Таким образом, вопрос о денитрификации за счет углеводородов, как лишь едва затронутый исследованиями, представляет интерес. Особый интерес вызывает использование такого устойчивого вещества, как битум. Нефтяной битум представляет собой смесь нафтеновых циклических углеводородов. Он часто употребляется как гидроизоляция при прокладке подземных кабелей, при строительстве подземных сооружений и т. д. Изучение возможности использования его микробами в условиях относительно анаэробных имеет немалое практическое значение.

Экспериментальная часть

Культуры микроорганизмов. В работе использовались как накопительные, так и чистые культуры.

Накопительные культуры получались следующим образом: посевным материалом служил комочек керна из нефтеносного района Башкирии с глубины 16 м и кусочки битума, длительное время находившегося под землей, в соприкосновении с грунтовыми водами. Посевной материал помещался в высокие пробирки, обмазанные внутри стерильным битумом и залитые доверху стерильным минеральным раствором следующего состава: 0,75 г $(NH_4)_2HPO_4$ и 2 г KNO_3 на 1 л водопроводной воды. Пробирки закрывались каучуковыми пробками с затворами с крепкой серной кислотой для выхода могущего образоваться газа — азота, CO_2. Так как выяснилось, что газ образуется чрезвычайно медленно и в очень

небольшом количестве, то в дальнейшем оказалось возможным закрывать пробирки герметически каучуковыми пробками. Пробирки помещались в термостат при 30°. Через одну-две недели процесс денитрификации констатировался по появлению нитритов, обнаруживаемых реактивом Грисса. Накопительные культуры пересевались несколько раз с интервалом в несколько недель. В результате уже в первой генерации накапливались бактерии, дающие при высеве на МПА в чашках не более чем 2—3 вида колоний. Количество бактерий при подсчете выросших колоний доходило до нескольких сотен миллионов в 1 мл жидкости. Бактерии располагались на поверхности битума, а раствор оставался почти прозрачным. Для подсчета бактерии смывались с битума путем длительного встряхивания. Единообразие колоний, вырастающих на МПА на чашках Петри, говорило о том, что в накопительной культуре происходит отбор специфических форм.

Для определения бактерий было взято 12 чистых культур из различных накопительных культур. 2 культуры были идентифицированы как Pseudomonas aeruginosa, 8 — как Achromobacter agile, 1 — как Ach. centropunctatum и 1 не могла быть определена по Бердже. Эти виды являются денитрификаторами, восстанавливающими NO_3' до свободного азота. При высеве из накопительных культур в МПА с KNO_3 столбиком для обнаружения анаэробных бактерий были выделены те же виды, являющиеся факультативными анаэробами. Несомненно, что в накопительной культуре могли содержаться бактерии, не растущие на МПА. Действительно, нами обнаружен Sulfomonas denitrificans (Thiobacillus denitrificans Beijerinck), развивающийся за счет окисления серы, содержащейся в битуме в качестве примеси, кислородом нитратов. Эта бактерия была получена в накопительной культуре. Об интенсивности ее деятельности можно судить по возрастанию сульфатов в накопительной культуре (табл. 1). Сульфаты определялись нефелометрически, по мутности раствора после осаждения сульфатов $BaCl_2$ в присутствии HCl (10 мл среды + 0,1 мл HCl, $d = 1{,}12$ + 0,4 мл $BaCl_2$ 10%). О количестве сульфатов можно было судить при сравнении испытуемого образца со стандартным раствором K_2SO_4.

Таблица 1

Содержание сульфатов в накопительных культурах

Исследуемый материал	SO_4'' в мг/л
Водопроводная вода	5,5
Стерильная среда	8,1
Стерильная среда, длительно соприкасающаяся с битумом	16,5
То же	13,5
Культура № 1	27,5
„ № 2	33,0
„ № 3	27,5
„ № 4	44,0
„ № 5	22,0

Можно видеть, что стерильная среда выщелачивает из битума некоторое количество сульфатов, имеющихся там в виде примеси, но в результате жизнедеятельности бактерий в растворе оказывается в 2—3 раза больше сульфатов.

Можно предположить, что в накопительной культуре могут быть и другие бактерии, не растущие на МПА, но так или иначе использующие битум. Поэтому вся дальнейшая работа велась параллельно с накопи-

тельными культурами и с чистыми культурами вышеуказанных денитрификаторов, выделенных на МПА.

Методика

Для того, чтобы исключить из среды всякое иное органическое вещество, кроме исследуемого углеводорода, в дальнейшем работа велась в склянках с притертыми пробками. Среда готовилась на бидестиллированной воде, причем вторая перегонка велась в присутствии перманганата. Состав среды на 1 л воды: $MgSO_4$ — 0,2 г; $CaCl_2$ — 0,2 г; KH_2PO_4 — 1 г; $(NH_4)_2SO_4$ — 1 г; KNO_3 — 2 г; $FeCl_3$ — 2 капли продажного раствора; $MnSO_4$ и $(NH_4)_2MoO_4$ — следы. Эта среда употреблялась во всех опытах, кроме первого. В первом опыте мы не соблюдали предосторожностей против попадания органического вещества, а, наоборот, добавили в среду очень небольшое количество — 0,5 мл дрожжевого отвара на 1 л среды, так как в литературе (ZoBell [11]) указывалось, что небольшое количество органического вещества в начале развития культуры стимулирует развитие бактерий. Но так как посороннее органическое вещество затемняет картину развития бактерий за счет битума, мы со второго опыта перешли на работу с вышеупомянутым чисто минеральным раствором. Количество бактерий учитывалось методом счета колоний на МПА и прямым методом Виноградского. Перед отбором пробы среда тщательно взбалтывалась. Количество нитратов до и после опыта определялось колориметрически при помощи феноддисульфоновой кислоты, а нитриты — реактивом Грисса (описание методики см. у Иоу [1]); pH определялось электрометрически на потенциометре.

Денитрификация за счет битума

Накопительные культуры. Битум стерилизовался в автоклаве. Стерильным битумом обмазывались стерильные предметные стекла. Обмазанные стекла помещались в стерильные склянки на 500 мл в количестве 10 штук. Площадь битума составляла 0,04 м². В склянки, доверху заполненные солевым раствором, вносился посевной материал, и склянки закрывались притертыми стеклянными пробками. Посевным материалом для культуры № 1 служила накопительная культура, полученная из битума, соприкасавшегося в почве с грунтовыми водами, несколько раз пересевавшаяся на битум в пробирках. При посеве внесено 0,03 мл на 500 мл среды. Культура № 2 была получена из вышеупомянутого керна из нефтеносного района с глубины 16 м, посев произведен первой генерацией тоже в количестве 0,03 мл на 500 мл среды. Периодически отбирались пробы для учета количества бактерий. При этом склянки тщательно взбалтывались с пузырьком воздуха, чтобы снять бактерий с поверхности битума. В конце опыта производилось определение нитратов, нитритов и pH. Так как битум не является химически чистым углеводородом и может содержать случайные примеси, то одни и те же стекла с битумом употреблялись для ряда опытов. После окончания первого опыта культуральная жидкость сливалась после взбалтывания и в склянки наливался новый стерильный раствор. Опыт начинался сначала, при этом посевным материалом служили те бактерии, которые остались на битуме и на стенках сосуда. Если развитие бактерий в первом опыте идет за счет случайных примесей, содержащихся в битуме, то в последующих, по мере их потребления, развитие должно затухать в том случае, если оно шло за счет примесей. Всего было поставлено 4 последовательных опыта с одним и тем же битумом. Результаты приведены в табл. 2.

Таблица 2

Развитие бактерий на одном и том же битуме в 4 последовательных опытах

№ опыта	Дни	Накопительная культура			
		№ 1		№ 2	
		количество бактерий в 1 мл в млн. определялось			
		подсчетом колоний	по Виноградскому	подсчетом колоний	по Виноградскому
1	0	0,005	0,012	0,003	0,006
	5	40	350	30	230
	12	100	370	100	280
	28	170	450	300	500
	83	28	260	5	460
2	6	4	82	1	80
	75	80	159	3	46
3	5	2,7	27	4,7	18
	8	5,6	66	4,3	82
	17	80	110	61	170
	22	52	169	28	161
	29	51	285	39	248
4	0	22	80	42	180
	9	68	320	66	290
	16	219	860	204	600
	23	163	360	184	290

В первом опыте, как указывалось выше, к среде было добавлено небольшое количество дрожжевого автолизата. Поэтому развитие бактерий было более интенсивным, чем во втором и третьем опытах. Однако в четвертом опыте количество бактерий было еще более значительным, чем в первом, несмотря на полное отсутствие каких-либо органических веществ, кроме битума, и достигало 600—860 млн. на 1 мл. При этом надо иметь в виду, что бактерии располагаются главным образом на поверхности битума, образуя очень тонкий матовый налет. В препаратах из этого налета можно видеть скопления мелких палочек, весьма однородных, образующих как бы однослойную бактериальную пленку. При взбалтывании среды, несомненно, могут смыться не все бактерии. Поэтому цифры в таблице, вероятно, являются преуменьшенными.

Так как учет по колониям и прямым методом дает цифры одного порядка — сотни миллионов на миллилитр, то весьма вероятно, что, кроме бактерий, вырастающих на МПА, другие виды не развиваются. Учет прямым методом в период максимального развития культуры дает цифры лишь в 3—4 раза большие, чем методом учета колоний, что может быть объяснено тем, что на чашках учитываются только живые клетки, а прямым счетом — и живые и мертвые. Развитие бактерий идет довольно медленно. Лишь приблизительно через 3—4 недели нарастает максимальное количество бактерий. Затем оно начинает убывать. Это происходит, повидимому, из-за накопления вредных продуктов обмена. Действительно, в конце второго опыта, через 75 дней после его постановки, в среде обнаружено в культуре № 1 390 (табл. 3), а в культуре № 2 280 мг NO_2' на 1 л. Такие большие количества нитритов мы обнаруживали неоднократно в очень старых культурах на битуме. В конце третьего опыта, через 29 дней, количество нитритов было еще невелико: 4,8 мг в культуре № 1 и 0,02 мг в культуре № 2. Однако количество бактерий в культуре № 1 уже не нарастало. В культуре № 2, практиче-

ски не содержащей нитрита, развитие продолжалось. Таким образом, даже 4,8 мг NO_2 на 1 л уже тормозит размножение бактерий.

В табл. 3 представлено количество нитратов, нитритов и pH в начале и в конце развития культуры.

Таблица 3

Количество нитратов, нитритов и pH до и после развития накопительных культур

№ опыта	Культуры	NO_3' в мг/л	NO_2 в мг/л	pH
2	№ 1	—	390	—
	№ 2	—	280	—
	Исходная	—	0	—
3	№ 1	1360	4,8	6,36
	№ 2	1270	0,024	6,37
	Исходная	1400	0	6,8
4	№ 1	950	0,1	6,3
	№ 2	370		6,4
	Исходная	1340		6,8

Из данных табл. 3 видно, что нитраты в среде убывают, особенно в четвертом опыте, когда культура, очевидно, приспособилась к использованию битума. Интересно отметить, что, несмотря на наличие денитрификации, не происходит подщелочения среды, наоборот, наблюдается небольшое подкисление. Повидимому, из битума образуются какие-то кислоты, нейтрализующие щелочь, накапливающуюся в результате разложения KNO_3.

Поверхность битума после четырехкратного развития культуры на нем осталась на вид неизмененной. После удаления мутной бактериальной пленочки открывается блестящая черная поверхность битума, без видимого уничтожения материала. Очевидно, количество использованного битума очень невелико.

Чистые культуры. Аналогичные опыты были поставлены с чистыми культурами денитрификаторов, полученных на МПА. Стеклянные палочки длиной 5 см помещались в колбочку и заливались расплавленным битумом. Колба закрывалась ватной пробкой и стерилизовалась в автоклаве. После стерилизации палочки, обмазанные битумом, вынимались фламбированным пинцетом и помещались в стерильные склянки на 100 мл с минеральным раствором. Битум покрывал палочки слоем в 1—0,5 мм. Производилось заражение чистыми культурами с МПА. Склянки наполнялись средой доверху и закрывались притертыми стеклянными пробками. Опыт велся при 30°.

Результаты приведены в табл. 4 и 5. Как и в опытах с накопительными культурами, с одним и тем же битумом были поставлены последовательные опыты. После окончания первого опыта раствор после взбалтывания сливался и наливался новый минеральный раствор. Опыт начинался сначала за счет бактерий, оставшихся на битуме и на стенках посуды.

Как можно видеть из таблиц, все три исследуемые культуры хорошо развивались, особенно во втором опыте, когда они, повидимому, приспособились к потреблению углеводорода. Содержание нитратов в среде уменьшалось, причем во втором опыте в большей степени, чем в первом. Нитриты появлялись в количестве до 22,5 мг на литр, pH немного снижался.

Можно заключить, что весьма распространенные бактерии из рода Achromobacter могут использовать углеводороды и именно — битум в процессе денитрификации.

Таблица 4

Развитие денитрификаторов на одном и том же битуме в двух последовательных опытах

№ опыта	Дни	Achromobacter agile		Achromobacter centropunctatum		Денитрификатор из рода Achromobacter	
		Количество бактерий в 1 мл в млн. определялось					
		подсчетом колоний	по Виноградскому	подсчетом колоний	по Виноградскому	подсчетом колоний	по Виноградскому
1	0	1,8	35	1,3	32	4,7	67
	11	14	115	59	173	58	185
	15	60	185	48	338	70	262
	23	100	310	37	260	80	220
2	0	20	88	40	126	95	193
	8	72	200	120	154	125	230
	15	163	210	182	380	175	265
	22	196	300	102	262	90	259

Таблица 5

Количество нитратов, нитритов и pH до и после развития чистых культур денитрификаторов на битуме

№ опыта	Культура	NO_3' в мг/л	NO_2' в мг/л	pH
1	Achr. agile	1310	9,8	6,1
	Achr. centropunctatum	1260	4,8	6,6
	Achr. sp.	1160	22,5	6,7
	Исходная	1340	0,0	6,7
2	Achr. agile	1100	0,6	6,22
	Achr. centropunctatum	1240	11,0	6,17
	Achr. sp.	1119	15,0	6,27
	Исходная	1400	0,0	6,7

Далее мы остановились на изучении отношения этих бактерий к другим углеводородам.

Денитрификация на парафине

Опыт был поставлен таким же образом, как и с битумом. Заражение производилось накопительной культурой № 2 и Achr. centropunctatum. Результаты приведены в табл. 6 и 7. Опыт показал, что бактерии развиваются на парафине. По мере привыкания бактерий к новому субстрату развитие ускоряется. Процесс денитрификации идет и во второй генерации значительно усиливается. Нитриты накапливаются в небольшом количестве. pH, как и на битуме, сдвигается в кислую сторону, но в незначительной степени.

Таблица 6

Развитие денитрификаторов на парафине в двух последовательных опытах

№ опыта	Дни	Achr. centropunctatum		Накопительная культура № 2	
		Количество бактерий в 1 мл в млн. определялось			
		подсчетом колоний	по Виноградскому	подсчетом колоний	по Виноградскому
1	0	1,3	44	2,1	4
	7	5,8	186	9,0	—
	15	107	244	62	170
	22	280	185	170	225
2	0	13	92	11	81
	7	75	242	64	250
	14	235	330	240	273
	21	232	265	175	250

Таблица 7

Количество нитратов, нитритов и pH до и после развития денитрификаторов на парафине

№ опыта	Культура	NO_3' в мг/л	NO_2' в мг/л	pH
1	Achr. centropunctatum	1610	0,2	6,18
	Накопительная культура № 2 . . .	1390	4,8	6,22
	Исходная	1900	0,0	6,5
2	Achr. centropunctatum	970	5,8	6,5
	Накопительная культура № 2 . . .	975	2,6	6,46
	Исходная	1465	0,0	6,83

Денитрификация на керосине

Следующим исследуемым углеводородом явился керосин. Для создания возможно большей поверхности соприкосновения керосина с

Таблица 8

Развитие денитрификаторов на керосине в двух последовательных опытах

№ опыта	Дни	Achr. centropunctatum		Накопительная культура № 2	
		Количество бактерий в 1 мл в млн. определялось			
		подсчетом колоний	по Виноградскому	подсчетом колоний	по Виноградскому
2	0	4,8	25	1,0	23
	7	8,0	—	6,9	—
	15	50,3	169	91	137
	22	180	198	220	220
2	0	10	100	10	101
	7	49	246	71	249
	14	120	334	140	254
	21	40	180	30	186

солевым раствором керосин смешивался с чистым кварцевым песком. После смешения с солевым раствором керосин образовывал маленькие, не сливающиеся капельки, удерживаемые песчинками на дне склянки. Результаты приведены в табл. 8 и 9. Как и в предыдущих опытах, развитие бактерий шло и во второй генерации ускорялось. Процесс денитрификации также шел и также сопровождался слабым подкислением.

Таким образом, и керосин используется теми же бактериями.

Таблица 9

Количество нитратов, нитритов и pH до и после развития денитрификаторов на керосине

№ опыта	Культура	NO_3' в мг/л	NO_2' в мг/л	pH
1	Achr. centropunctatum	1480	0,5	6,2
	Накопительная культура № 2 . . .	1360	1,6	6,17
	Исходная	1900	0,0	6,5
2	Achr. centropunctatum	1050	1,9	6,48
	Накопительная культура № 2 . . .	1273	1,2	6,5
	Исходная	1465	—	6,8

Денитрификация на резине

В наших предварительных опытах мы пользовались при постановке анаэробных культур резиновыми пробками. Мы имели случай убедиться,

Таблица 10

Развитие Achr. centropunctatum на резине

Дни	Культура с МПА		Культура с парафина		Культура с керосина	
	Количество клеток в 1 мл в млн. определялось					
	подсчетом колоний	по Виноградскому	подсчетом колоний	по Виноградскому	подсчетом колоний	по Виноградскому
0	30	95	20	93	8	130
7	60	190	70	210	55	220
14	160	265	140	230	—	240
21	70	170	90	220	90	200

что при такой постановке опыта бактерии развиваются в тех контрольных пробирках, в которые не добавлялось никаких углеводородов, а имелся минеральный раствор, налитый доверху и закупоренный резиновой пробкой. Когда мы стали пользоваться стеклянными пробками, бактерии без углеводородов уже не развивались. Это натолкнуло нас на мысль поставить опыты для наблюдения за развитием бактерий за счет резины.

Пробка из черного синтетического каучука нарезалась на тонкие полоски. Эти полоски промывались тщательно водой и в стерильном виде помещались в склянки с солевым раствором, как и в предыдущих опытах. Заражение производилось культурой Arch. centropunctatum, взятой с МПА, из опыта с парафином и из опыта с керосином. Таким образом, было поставлено 3 варианта. В этом опыте попутно мы хоте-

Таблица 11

Количество нитратов, нитритов и pH до и после развития Achr. centropunctatum на резине

Условие культивирования	NO_3' в мг/л	NO_2' в мг/л	pH
Культура с МПА	1307	2,2	7,2
„ с парафина	1200	3,2	7,1
„ с керосина	1236	4,0	7,2
Исходная	1465	0,0	6,8

ли выяснить, как повлияет предшествующее культивирование на развитие на углеводороде.

Как видно из данных таблиц, на резине шло развитие бактерий и разрушение нитратов в таких же масштабах, как на парафине и керосине. Заметной разницы между культурой, взятой с МПА, с керосина или парафина нет. Результаты представлены в табл. 10 и 11.

Выводы

1. Углеводороды — битум, керосин, парафин и резина — могут служить как источники окисляемого органического вещества в процессе денитрификации.
2. Бактериями, окисляющими углеводороды в процессе денитрификации при затрудненном доступе воздуха, являются представители рода Achromobacter и Pseudomonas.
3. Развитие культур ускоряется при повторных пересевах на углеводороды.
4. Процесс денитрификации не сопровождается подщелочением среды.
5. Бактерии располагаются на поверхности углеводородов в виде пленочки.
6. На битуме, не являющемся химически чистым веществом и содержащем среди прочих примесей серу, наряду с вышеуказанными денитрификаторами развивается Sulfomonas denitrificans.

Московский государственный университет
им. Ломоносова

Получено 7.X.1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Иоу Д. Колориметрия. Москва, 1935.
2. Малиянц А. А. Очистка нефти от серы микробиологическим путем. Азербайджанское нефтяное хозяйство, № 6, 1935.
3. Осницкая Л. К. Разрушение углеводородов бактериями. Микробиология, XV, 1946.
4. Рубенчик Л. И. Сульфатредуцирующие бактерии. Изд. АН СССР, 1947.
5. Таусон В. О. Разрушение микроорганизмами химически устойчивых соединений. Микробиология, I, вып. 1, 1932.
6. Таусон В. О. Восстановление сульфатов бактериями в присутствии углеводородов. Микробиология, I, вып. 3, 1932.
7. Таусон В. О. и Веселов И. Я. О бактериологическом разложении циклических соединений при восстановлении сульфатов. Микробиология, III, вып. 3, 1934.
8. Bushnell L., Haas H. The utilisation of certain hydrocarbons by microorganisms. J. Bact., **41**, No. 5, 1941.
9. Novelli D. and ZoBell C. Assimilation of petroleum hydrocarbons by sulfat reducing bacteria, J. Bact., **47**, 417, 1944.
10. Rosenfeld W. Lipolytic activities of anaerobic bacteria. Arch. Bioch., **11**, No. 1, 1946.
11. ZoBell C. Action of microorganisms on hydrocarbons. Bact. Rev., **10**, No. 1—2, 1946.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО ОСАЖДЕНИЯ КАЛЬЦИЯ

Л. А. Розенберг

Почти полвека назад стало известно [4, 5], что соли кальция в растворах, не содержащих деятельно развивающихся бактерий, гораздо устойчивее, чем в присутствии микроорганизмов, изменяющих физико-химический режим морских и пресных вод. После работы Исаченко [2] едва ли нужны новые доказательства того, что бактерии являются одним из факторов осаждения $CaCO_3$ из природных растворов. Но в химизме этого процесса многое еще остается неясным. Мы не знаем точно веществ, продуцированных бактериями, или изменений физико-химических режимов, которые должны создать бактерии, чтобы произошло выпадение $CaCO_3$ из раствора.

Калиненко [3] показал, что бактерии, осаждающие соли кальция, ведут процесс седиментации, развиваясь за счет почти всех ассимилируемых соединений углерода. Безразличен также и источник азота: бактерии осаждают соли кальция, черпая азот из сложных и простых, органических и минеральных форм его. Затем в опытах Калиненко было обнаружено также, что выпадение солей кальция под действием бактерий не зависит от химического состава кальциевых соединений. Разнообразные органические и минеральные соли кальция в одинаковой степени неустойчивы на фоне биохимических изменений, производимых бактериями, но неизвестно, в чем сущность этих изменений, какой должен произойти качественный и количественный сдвиг в физико-химическом состоянии раствора, заселенного бактериями, чтобы $CaCO_3$ из его органических или минеральных растворенных соединений стал выпадать в форме кристаллического или аморфного осадка.

Большинство исследователей (Molish [5], Калиненко [3] и др.) предполагают, что бактериогенный аммиак является агентом осаждения карбоната кальция из пресной и морской воды. Калиненко проводил опыты, в которых колония бактерий, продуцирующая аммиак из пептона, вызывала выпадение солей кальция в стерильном агаре, помещенном над колонией и отделенном от нее слоем воздуха.

Мы предприняли исследования целого комплекса физико-химических изменений, вызываемых жизнью бактерий и приводящих к седиментации карбоната кальция в пресной и морской воде. Мы стремились определить роль бактериогенной углекислоты, стабилизирующее действие которой на растворимость углекислого кальция должно подавляться бактериогенным аммиаком и щелочностью, растущей по мере размножения бактерий в питательных растворах. Мы пытались определить количество солей кальция, выпадающих в осадок на фоне бактериальных процессов и углубиться, сколько возможно, в качественные и количественные превращения азота, возникающие при ассимиляции его бактериями из единственного данного в опыт источника азота, а именно, нитратов.

Методика

Опыты по бактериогенному осаждению солей кальция производились нами на жидких питательных средах следующего состава:

Среда 1-я — искусственная морская вода. Воды дестиллированной — 1000 мл, $NaCl$ — 23,47 г, $MgCl_2$ — 4,98 г, Na_2SO_4 — 3,91 г, $CaCl_2$ — 1,1 г, KCl — 0,66 г, $NaHCO_3$ — 0,19 г, KBr — 0,09 г, H_3BO_3 — 0,02 г, $SrCl_2$ — 0,02 г, NaF — 0,003 г, K_2HPO_4 — 0,1 г. Как источник органического вещества мы дали 2 г уксуснокислого натра и азот в форме KNO_3 — 2 г.

Среда 2-я — с водопроводной водой. Воды водопроводной — 1000 мл, KNO_3 — 2 г, $NaCl$ — 0,1 г, K_2HPO_4 — 0,01 г, уксуснокислый кальций — 2 г.

После растворения солей среды кипятились 10 минут, охлаждались и доливались дестиллированной водой до первоначального объема, тщательно взбалтывались и фильтровались через складчатый бумажный фильтр. Среды разливались по 90 мл в колбы Эрленмейера и стерилизовались в автоклаве при 110° в течение 20 минут.

На каждый опыт отбиралось 20 колб, половина из которых засевалась суспензией Bact. precipitatum Kalin. Другая половина служила контролем и в нее вводилась убитая кипячением бактериальная суспензия. Колбы с контрольными посевами и с посевами живой культуры помещались в термостат при 26—28°. Продолжительность опыта 5—6 дней. В течение этого времени велись наблюдения за ростом бактерий, за образованием кальцитов в бактериальной пленке. Кальциевые осадки изучались на предметных стеклах, которыми улавливалась часть бактериальной пленки. Ежедневно лупой отыскивались кристаллы кальцитов на стенках и на дне колбы. Затем отмечались pH, а также производились определения растворенных солей кальция, резервной щелочности (Alk) и количественных изменений разных форм азота: аммиачного, нитритного и нитратного.

Методы работы были следующие:

pH — определялся хингидронным методом с помощью потенциометра системы МОСКИП (Московского опытного завода контрольно-измерительных приборов).

Содержание растворенных солей кальция определялось путем осаждения ионов кальция щавелевой кислотой и титрованием 0,05 *N* перманганатом.

Резервная щелочность (Alk) определялась титрованием 0,01 *N* HCl со смешанным индикатором при продувании испытуемой пробы воздухом, промытым от следов аммиака.

Свободная CO_2 вычислялась по формуле CO_2 мг/л = 8,16 — pH + + Alk, так как pH наших сред в течение всех опытов был меньше 8,3.

Азот аммиачный определялся путем измерения фотоэффекта в фотоэлектроколориметре типа Ланге. Испытуемая проба обрабатывалась предварительно реактивом Несслера.

Азот нитритный анализировался в том же электрофотоколориметре после добавления к пробе реактива Грисса.

Азот нитратный определялся электрофотоколориметрически после добавления к пробе дифениламинового реактива.

Развитие бактерий и выпадение карбоната кальция и осадок

Мы задались целью проследить за развитием Bact. precipitatum в двух вышеописанных средах, сравнительно бедных питательными веществами и довольно близких к условиям питания бактерий в море. Опыт длился 5—6 дней, в течение которых образовывалась бактериальная пленка и было заметно осаждение солей кальция.

В контрольных колбах прозрачность среды не изменялась и не происходило образования кальцитов ни на стенках, ни на дне колбы. В колбах же с развивающимися бактериями, по мере роста культуры, наблюдалось помутнение среды, затем образование бактериальной плен-

ки, мощность которой ежедневно увеличивалась. Уже на второй день в этой пленке заметны были кристаллы кальцитов, количество и размеры которых непрерывно увеличивались. Дальше из них создавались плотные агрегаты (рис. 1) На стенках колбы образование кальцитов начиналось обычно на четвертый день пребывания колб в термостате, в виде характерных, не смываемых средой со стенок, минеральных осадков. Эти осадки легко растворялись слабой соляной кислотой с выделением газообразного CO_2 (рис. 2). Наблюдение за состоянием кристаллов очень удобно делать под микроскопом. Очень хорошо видно было выделение газа, если вводился по капле однопроцентный раствор HCl под покровное стекло, прижимавшее кусочек бактериальной пленки.

Изменения в значении pH

Изменение pH в питательных растворах, в которых происходит бактериогенное осаждение солей кальция, имеет существенное значение для выяснения физико-химических условий осаждения солей кальция.

В опытах, результаты которых изложены в табл. 1, мы следили за динамикой pH в культуре бактерий, осаждающих углекислый кальций. Общий вывод из этих опытов следующий: в питательных растворах на морской воде и на водопроводной воде, по мере роста бактерий, реакция делается более щелочной. Искусственная морская вода имеет начальную реакцию более щелочную, чем среда на водопроводной воде. Развитие бактерий на этих двух средах не сглаживает разницы в pH и не сближает уровней реакции в момент садки карбоната кальция. pH искусственной морской воды в момент осаждения карбоната кальция бактериями оказывается более щелочным, чем на среде с водопроводной водой (7,97 и 7,25 — 7,38).

Опыт на среде с водопроводной водой был дополнен следующим вариантом: на третий день пребывания колб в термостате, когда началось осаждение карбоната кальция в колбах с живыми бактериями, в часть контрольных колб (без живых бактерий) были внесены различные количества 0, 1 *N* NaOH и 2,8% NH_4OH и, таким образом, были искусственно получены значения pH: 7,0; 7,5; 8,0; 8,5.

Таблица 2

Осаждение карбоната кальция из стерильной среды добавкой аммиака и едкого натра

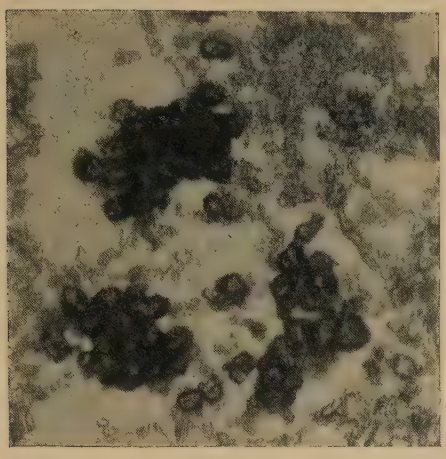
NH_4OH	7,0	7,5	8,0*	8,5
NaOH	7,0	7,5	8,0	8,5*

* Начало осаждения карбоната кальция.

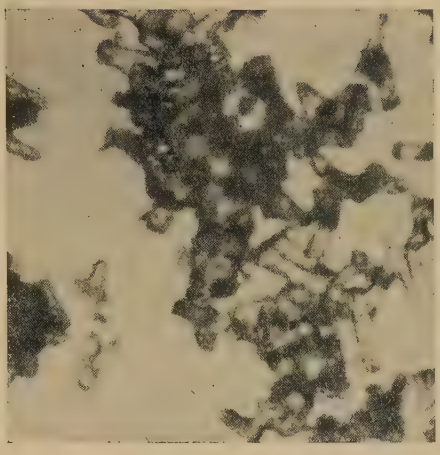
Как видно из табл. 2, осаждение карбоната кальция путем абиогенного подщелачивания наблюдается в средах с добавлением NH_4OH при pH = 8,0 и 8,5, а в средах с добавлением NaOH только при pH = 8,5.

Сопоставляя данные, приведенные в табл. 1 и 2, мы видим, что для перехода $CaCO_3$ в осадок достаточно бактериям довести pH среды до 7,25. В колбах, где нет бактериальной жизни, выпадение $CaCO_3$ возникает только в том случае, если концентрация OH поднята едким натром до pH = 8,5. В колбах, в которых величину pH мы изменяли аммиаком, надо реакцию довести до pH = 8,0, чтобы вызвать эффект седиментации карбоната кальция.

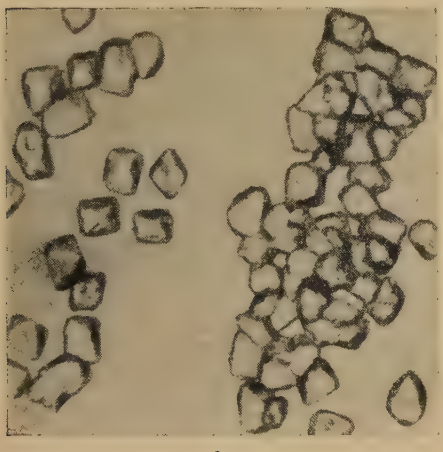
Таким образом, своеобразие бактериогенного процесса осаждения $CaCO_3$ состоит в том, что для перехода его в осадок, реакция раствора может быть менее щелочной, чем при абиогенной седиментации.



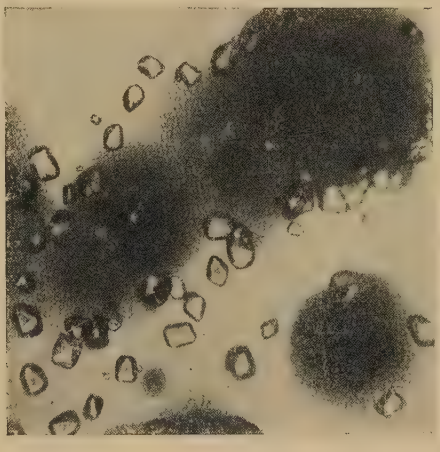
1



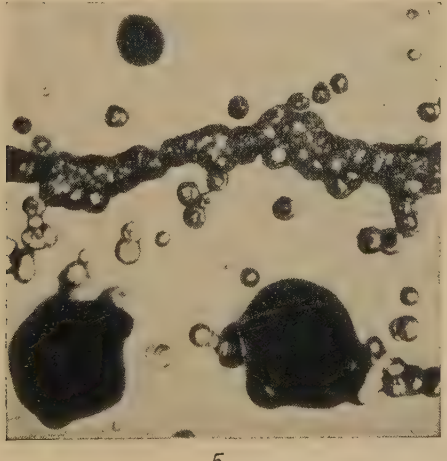
2



3



4



5

Рис. 1. Агрегаты кристаллов карбоната кальция в бактериальной пленке на жидкой среде. Три темных островка в центре снимка состоят из кристаллов карбоната кальция, цементированных телами бактерий. 350 ×

Рис. 2. Образование кальцитов на стенках колбы с жидкой средой. Темные места представляют собою бактериальные колонии, в беспорядке окруженные палочковидными кристаллами кальцита . 150×

Рис. 3. Образование кристаллических агрегатов из отдельных кристаллов, возникших в жидкой среде, благодаря действию бактерий. 350 ×

Рис. 4. Колонии Bact. precipitatum на агаре, окруженные кристаллами карбоната кальция. 75×

Рис. 5. Образование кальцитового вала на агаре. Три темных пятна являются бактериальными колониями. 75×

Таблица 1

Изменения pH в опытах с искусственной морской водой и в среде с водопроводной водой

Среда *	Источник азота	Источник органического вещества	Источник кальция	Контроль (дни)					Культура бактерий (дни)				
				1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Искусственная морская вода (среда 1)	KNO_3	Уксуснокислый натр	$CaCl_2$	7,66	7,47	—	7,68	7,77	7,69	7,82	—	7,97**	7,98
С водопроводной водой (среда 2)	KNO_3	Уксуснокислый кальций	См. источник органического вещества	— — —	7,0 6,98 —	7,04 7,03 6,84	6,93 6,96 6,89	6,87 6,95 6,89	— — —	7,22 7,21 —	7,38** 7,27 7,20	7,24 7,36** 7,25**	7,18 7,27 7,14

* См. методику
** Начало осаждения карбоната кальция

Таблица 3

Изменение количества кальция в питательной среде (Ca в мг на 1 л)

Среда	№ опыта	Продолжительность опыта и количество кальция в контрольных колбах (дни)					Продолжительность опыта и количество кальция в культуральной жидкости (дни)					Количество осажденного кальция в культуральной жидкости в % от контроля (дни)		
		2	3	4	5	6	2	3	4	5	6	4	5	6
Водопроводная вода с KNO_3 и уксуснокислым кальцием (среда 2. См. методику)	1	571,1	—	571,1	576,9	576,3	581,2	—	536,1*	481,0	476,0	6,13	13,03	17,4
	2	626,2	626,2	611,2	—	616,4	626,2	611,2	571,1*	—	531,3	6,58	—	13,84
	3	—	—	626,0	626,2	625,4	—	—	557,7*	521,0	531,1	11,23	16,8	15,07

* Начало осаждения карбоната кальция

Известно [1], что хемогенное выпадение $CaCO_3$ в осадок из раствора происходит при pH выше 8,0, благодаря нарушению карбонатного равновесия в воде, при уменьшении концентрации H_2CO_3.

В культурах бактерий осаждение карбоната кальция наступает при более кислом режиме, чем при чисто химическом осаждении.

В этом отличии условий химического осаждения карбоната кальция от бактериологического скрыт какой-то дополнительный, нами не замеченный фактор.

Мы предполагаем, на основании видимых наблюдений (см. заключение), что физико-химический режим в бактериальных культурах имеет зональное состояние, которое мы не можем улавливать обычными приемами анализа. Вблизи колонии все константы, управляющие осаждением карбоната кальция, несомненно, другие, чем в остальной массе питательного раствора. И, вероятно, микрозональный физико-химический режим не дисгармонирует с закономерностями аналитической химии.

Изменение количеств карбоната кальция в растворе

Наблюдения над изменением количеств ионов кальция в растворе, как в контрольных колбах, так и в колбах с культурой Bact. precipitatum, дает возможность количественно охарактеризовать седиментирующую работу бактерий.

Определения кальция производились в культуральном фильтрате, полученном с помощью стеклянных фильтров Шотта. Данные приводятся нами в мг Ca на 1 литр среды (табл. 3).

Как видно из табл. 3, за счет жизнедеятельности Bact. precipitatum выпадает до 17% кальция за шесть дней. Иначе говоря, количество и скорость бактериогенного осаждения карбоната кальция довольно высоки.

Щелочность и углекислота

Так как растворимость солей кальция зависит от концентрации CO_2, мы следили за количественными изменениями углекислоты в течение опыта, особенно тогда, когда наступало заметное выпадение карбоната кальция в осадок. Можно было ожидать резкого снижения количества CO_2 в питательной среде в связи с осаждением карбоната кальция. Однако, как видно из нашей работы, этого не наблюдается.

Таблица 4

Изменения щелочности и концентрации углекислоты в опытах с бактериогенным осаждением карбоната кальция

Среда *	Компоненты равновесия	Контроль (дни)				Культура бактерий (дни)			
		3	4	5	6	3	4	5	6
Искусствен. морская вода с $(NH_4)_2SO_4$ и уксуснокислым натром и $CaCl_2$ (среда 1) . . .	Alk	1,46	1,52	1,48	1,50	4,08	3,91**	4,86	5,46
	CO_2	6,52	8,35	6,46	6,25	17,0	8,55**	8,06	8,46
Искусствен. морская вода с KNO_3 и уксуснокислым натром и $CaCl_2$ (среда 1) . . .	Alk	1,78	1,82	1,80	1,82	4,32	4,48**	5,36	5,94
	CO_2	5,63	8,91	5,43	4,47	12,7	9,8**	8,3	8,99

* См. методику.
** Начало осаждения карбоната кальция.

Концентрация свободной CO_2 вычислялась из данных по щелочности и pH. Данные по щелочности и свободной CO_2 приводятся в табл. 4 и выражаются: Alk в мг/экв/л, а CO_2 — в мг/л.

Как видно из табл. 4, по мере роста культуры Bact. precipitatum во-первых, растет титруемая щелочность среды; во-вторых, если взять контрольную колбу и колбу с культурой Bact. precipitatum одинакового возраста, то концентрация углекислоты культуральной жидкости в колбах с бактериями будет всегда выше.

Замечательно, что развитие бактерий на фоне аммиачного и нитратного азота не создает специфического режима щелочности и углекислоты для каждого из этих источников азота. Заставляем ли мы Bact. precipitatum денитрифицировать нитраты или нитрифицировать аммоний, углекислый режим в обоих процессах в общем одинаков.

Анализируя данные по свободной CO_2, можно заключить, что повышение концентрации CO_2 в средах с развивающимися бактериями не оказывает стабилизирующего влияния на растворимость $CaCO_3$.

Превращение азота при бактериогенном осаждении карбоната кальция

Предыдущие исследователи [3, 5] считали, что осаждение карбоната кальция вызывается бактериогенным аммиаком.

Сложной задачей является обнаружение источников происхождения аммиака, потому что аммиак может возникать следующими путями:

1. При разрушении бактериями белковых тел.
2. При разрушении бактериями некоторых форм минерального азота (соединений нитритов и нитратов).
3. Аммиак может образовываться при автолизе бактериальных тел.
4. Аммиак может быть суммарным фактором из всех трех названных источников.

Выпадение солей кальция на фоне превращения белкового азота с образованием аммиака было ранее изучено Молишем. Мы проанализировали осаждение карбоната кальция на фоне превращений минерального азота.

Ранее (3) было установлено, что при питании бактерий минеральными источниками азота (KNO_3 и $(NH_4)_2SO_4$) имеет место осаждение карбоната кальция.

Таблица 5

Превращения нитратного азота при бактериогенном осаждении карбоната кальция

№ опыта	Среда *	Формы азота	Контроль				Культура бактерий			
			2	3	4	5	2	3	4**	5
1	Водопроводная вода с KNO_3 и уксуснокислым кальцием	NNO_3	315,2	323,4	323,0	319,0		307,9	307,2	306,4
		NNO_2	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,053	0,055	0,058
		NNH_4	0,296	0,245	0,245	0,245	0,260	0,245	0,840	0,977
2	Водопроводная вода с KNO_3 и уксуснокислым кальцием	NNO_3	257,2	263,0	261,0	262,0	255,8	247,4	228,6	202,0
		NNO_2	0,053	0,053	0,053	0,053	0,083	0,095	0,15	0,5
		NNH_4	0,404	0,403	0,399	0,399	0,245	0,569	0,770	1,030

* См. методику.
* Начало осаждения карбоната кальция

В нашем опыте мы давали в среду нитратный азот и учитывали те количественные и качественные изменения, которые претерпевает нитратный азот в процессе развития бактерий и осаждения карбоната кальция.

В табл. 5 мы приводим данные по изменению нитратного азота, которые выражаются в мг азота нитратов, нитритов и аммиака на 1 литр.

Нитратный азот дан в питательную среду в виде KNO_3 2 г на 1 л, что должно соответствовать 277,1 мг азота на 1 л. Но в нашей среде исходные количества нитратного азота не соответствуют 277,1 мг и выражаются для опыта 1 в 315—320 мг на 1 л, а для опыта 2—257—262 мг на 1 л. Эти расхождения могут быть объяснены неточностью взятой нами навески и потерями при стерилизации питательной среды. В дальнейших расчетах мы принимаем эти эмпирические количества нитратного азота в обоих опытах за исходные.

Нам не удалось провести определение общего азота. Поэтому невозможно установить баланс его. Но наши опыты показывают, что в процессе развития Bact. precipitatum потребляются нитраты и, как видно из табл. 5, уже на третий день в колбах с бактериями уменьшение количества N/NO_3 выражается в 5—6%, на четвертый день — 5—12% и на пятый день — 4—23%. Как видно далее из этой же таблицы, потребление бактериями нитратного азота сопровождается появлением нитритов и аммиака. Увеличение N/NO_2 в среде достигает за 5 дней 950% от контроля. Увеличение N/NH_4 достигает 400%.

Бросая общий взгляд на превращение азота в наших опытах, мы видим, что из нитратов возникают нитриты и аммиак без выделения свободного азота. Из двух этих форм редуцированного нитратного азота осаждать карбонат кальция может только аммиак. Привлекая сюда ранее полученные нами данные (см. табл. 2) по осаждению солей кальция растворами аммиака, мы можем сказать, что бактериогенное осаждение карбоната кальция возникает в тот момент, когда концентрация аммиака в 7—8 раз меньше, чем в химических опытах.

Заключение

Исследуя седиментирующую роль бактерий, мы далеки от мысли опровергать закон действующих масс. То, что для бактериогенного осаждения карбоната кальция достаточно в восемь раз меньшего количества аммиака, мы объясняем изменениями химической обстановки в микрозоне бактериальной колонии. Здесь создаются такие условия и такие концентрации, которые вызывают микрозональную кристаллизацию карбоната кальция. Для этого заключения имеются прямые наблюдения: одиночные кристаллы и кристаллические агрегаты обильнее всего и раньше других мест образуются в бактериальной пленке на жидкой среде (рис. 3). На агаре же эта связь клетки и осаждаемого карбоната кальция еще яснее: кристаллы солей кальция прежде всего возникают в толще бактериальной колонии (рис. 4), затем кольцом нарастают на периферии колонии и постепенно количество кристаллов солей кальция убывает с увеличением расстояния от центра колонии (рис. 5). На тонких прозрачных пластинках агара, содержащего раствор органической или минеральной соли кальция, седиментирующее действие бактериальных клеток на кальций очень ясно видно (Калиненко [3]).

Считаю своим долгом выразить благодарность проф. В. О. Калиненко за советы, указания и руководство работой, а также Т. В. Сечкиной и В. Л. Мехтиевой, принявшим участие в выполнении отдельных операций и определений.

Выводы

1. Роль бактерий в осаждении карбоната кальция очень выразительна. В течение 5—6 дней на среде, отнюдь не оптимальной, выпадало до

17% кальция, что составляло до 100 мг Ca на 1 л или до 250 мг $CaCO_3$ на 1 л.

2. Развитие бактерий и биохимические процессы, протекающие при этом, ограничивают стабилизирующее действие углекислоты на растворимость солей кальция. Несмотря на то, что во всей толще среды концентрация CO_2 достаточна для удержания солей кальция в растворенном состоянии, в микрозонах возле бактериальных колоний происходит энергичная кристаллизация карбоната кальция.

3. Своеобразие и величина бактериальной седиментации кальция легко обнаруживается по сравнению с контрольными растворами солей кальция, не содержащими бактерий, но тонкий механизм бактериальной биогеохимической работы требует изучения химизма в микрозонах, где соприкасаются живые клетки и вещества, их питающие и ими изменяемые.

Институт океанологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 14.XII.1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Алекин О. А. Общая гидрохимия. Гидрометеоиздат, 1948.
2. Исаченко Б. Л. О биогенном образовании карбоната кальция. Микробиология, XVII, вып. 2, 1948.
3. Калиненко В. О. Бактериогенное осаждение кальция в море. Труды Ин-та океанологии АН СССР, т. III, 1949.
4. Drew H. On the precipitation of calcium carbonate in the sea by marine bacteria. Papers from the Tortugas Labor. of the Carnegie Inst. of Wash., v. V, 1914.
5. Molisch H. Über Kalkbakterien und andere kalkfällende Pilze. Ctbl. Bakt., II, Abt., 65. 1925.

ТЕРМОФИЛЬНЫЕ ПЕКТИНОВЫЕ БАКТЕРИИ

А. А. Имшенецкий и *Л. И. Солнцева*

Существует несколько точек зрения на происхождение термофильных микроорганизмов. В частности, высказывается предположение, что они представляют собой реликтовые формы, жившие в отдаленные геологические эпохи, когда температура воды в водоемах была сравнительно высока.

Трудно согласиться с подобной гипотезой. Гораздо правильнее считать, что термофилы возникают в результате приспособления мезофильных микробов к повышенным температурам. Следовательно, процесс образования термофильных микроорганизмов неразрывно связан с условиями жизни мезофильных форм и при изменении этих условий возникают новые организмы. Этот процесс не связан с прошлым, а наблюдается и теперь постоянно. Правильность этой концепции подтверждается, в частности, тем, что в условиях эксперимента удается изменить отношение мезофильных микроорганизмов к температуре и приучить их к развитию при более высоких температурах (Имшенецкий [2], Логинова [4]). Следовательно, поиски термофилов должны производиться не только там, где естественно создаются условия самонагревания органического вещества, но и там, где в результате практической деятельности человека мезофильные микроорганизмы превращаются в термофильные. В ранее опубликованных нами работах [3] отмечалась высокая биохимическая активность термофилов и целесообразность их более широкого использования в практике. Из различных физиологических групп бактерий практическое применение получили термофильные целлюлозные бактерии, а также микроорганизмы, образующие активные гидролитические ферменты (амилаза, протеиназа) для получения ферментативных препаратов. В связи с возможной интенсификацией других биохимических процессов известный интерес представляли поиски термофильных бактерий, разлагающих пектин. Бактерии, обладающие этой способностью и развивающиеся при высоких температурах, в литературе не описаны, между тем они могли бы найти применение как при мочке льна, так и при получении активных препаратов фермента пектиназы.

На протяжении пяти лет нами эпизодически производились поиски термофильных пектиновых бактерий. С этой целью было исследовано большое число образцов льна, выросшего в различных местах Советского Союза. Несколько соломинок из каждого образца вносились в высокую пробирку, содержащую снопик льна, залитый водой и простерилизованный. Засеянные пробирки помещались в термостат при 60°. Через 2, 5, 10 и 15 дней пробирки просматривались и среда микроскопировалась. В конце опыта производилась микроскопия как окрашенных, так и не окрашенных препаратов, приготовленных из жидкости, выжатой из соломинок, взятых из снопика. В небольшом числе пробирок наблюдалось присутствие в жидкости единичных бактериальных клеток.

Что же касается разложения пектина, то, несмотря на очень большое число исследованных образцов льна, ни один из них не содержал термофильных бактерий, сбраживающих пектин. Следовательно, на поверхности льняной соломы нет термофилов, разлагающих пектин, тогда как

мезофильные бактерии, обладающие этой способностью, встречаются постоянно. Последнее легко объяснить тем, что распространение бактерий определяется экологическими особенностями субстрата, в данном случае составом растительного сырья, т. е. содержанием в нем пектина. Отсутствие же термофилов на поверхности льняной соломы объясняется, повидимому, тем, что солома не подвергалась самонагреванию и, следовательно, не было условий для обогащения ее термофилами. В связи с этим стало очевидным, что рассчитывать найти нужные нам формы, можно только там, где происходит разложение пектина микробами при высоких температурах. Наше внимание привлекли очистные сооружения, работающие при 50—55°, в которые из сточных вод попадает значительное количество растительных остатков, несомненно содержащих пектин. С целью проверить скорость разложения пектина, в термофильный метан-тэнк были помещены сноп льна и картофельная мезга, которая, как известно, содержит пектин. Мезга помещалась сначала в коробку из металлической сетки, а затем погружалась в метан-тэнк. Через два дня мезга почти полностью разрушилась. Сноп льна за этот срок не был разложен, но при испытании отдельных соломинок выяснилось, что лен полностью вымочен.

Рис. 1. Поперечный срез стебля льна. Пектин полностью разложен. Сноп льна находился в термофильном метан-тэнке 21 час при 53°

Все это говорило о довольно быстром разложении пектина в термофильных метан-тэнках. В дальнейшем опыты были повторены, и в метан-тэнки при 53° был загружен большой сноп льна. Через 21 час сноп был извлечен и при его исследовании оказалось, что он несколько перемочен. Микроскопия поперечных срезов соломы подтвердила полное исчезновение пектина при сохранении целлюлозы волокон (рис. 1). Таким образом, в этих условиях происходит быстрая мочка льна. Вопрос о том, в какой мере разложение пектина было связано с действием фермента пектиназы, которая могла быть в жидкости, а в какой мере с развитием термофильных бактерий, разлагающих пектин, оставался открытым. В дальнейшем было начато выделение накопительных и чистых культур термофильных пектиновых бактерий.

Методика

При выделении накопительных культур посевы исследуемого материала производились в высокие пробирки, содержащие снопики льна, в одну из жидких сред, состав которых указан ниже. Среда стерилизовалась в высоких пробирках отдельно, и после стерилизации в пробирки вносились нестерильные снопики льна. Это было связано с необходимостью избежать тех изменений, которым подвергается солома льна при стерилизации в автоклаве. С целью доказать, что термофильные бактерии отсутствуют в самом льне, в каждой серии опытов контролем служили пробирки с той же средой и нестерильными снопиками льна, но без внесения посевного материала. В этих контрольных пробирках никогда не было развития термофилов, разлагающих пектин. Следовательно, эти опыты подтвердили наши более старые наблюдения, что сам лен не содержит термофилов. Все посевы выдерживались в термостате при

50—55°. Для получения накопительных культур применялись среды следующего состава.

1. Жидкая среда, состоящая из 75 мл фильтрата жидкости, взятой из термофильного метан-тэнка и 25 мл дрожжевой воды. К этой среде добавлялось 0,5 г пептона и 0,25 г мела.

2. Дрожжевой воды 50 мл, воды 50 мл, пептона 0,5 г, $MgSO_4$ 0,025 г, KH_2PO_4 0,1 г, мела 0,25 г.

3. 10% отвар конского навоза, к которому добавлялся мел в количестве 0,25%.

4. Печеночного экстракта 0,2 мл, пептона 0,5 г, мела 0,25 г, воды водопроводной 100 мл.

5. Пептона 0,25 г, печеночного экстракта 0,2 мл, мела 0,25 г, дрожжевой воды 100 мл.

6. Фильтрат жидкости из метан-тэнка 75 мл, дрожжевой воды 25 мл, мела 0,25 г, в эту среду вносилось 10% картофельной крошки и среда стерилизовалась.

Заражение снопиков соломы, погруженных в одну из перечисленных сред, производилось картофельной мезгой или вымоченной соломой льна, взятых из метан-тэнка. Помимо этого, были произведены также посевы различных почв и конского навоза в опытные пробирки, содержащие маленькие снопики льна и жидкую среду. В дальнейшем с помощью вакуум-насоса из пробирок удалялся воздух и пробирки запаивались.

Выделение чистых культур производилось на следующих средах.

1. Картофельный агар, приготовленный на жидкости, состоящей из 75% фильтрата жидкости из метан-тэнка и 25% дрожжевого отвара.

2. Морковный агар.

3. Плотная среда следующего состава: печеночного экстракта 0,2 мл, пептона 0,25 г, глюкозы 2 г, мела 0,25 г, агар-агара 1,5 г, дрожжевой воды 100 мл.

Агар-агар, применяемый в опытах, был высокого качества, так как пектиновые бактерии не развивались на средах с плохим агар-агаром.

Для получения чистых культур посев накопительных культур производился в расплавленные и остывшие плотные среды, налитые в узкие пробирки. С этой же целью применялись пастеровские пипетки, в которые насасывались различные разведения накопительной культуры, смешанные с одной из указанных выше сред. Выросшие в толще агара колонии микроскопировались, а затем материал, взятый из одной колонии, снова засевался в расплавленную и остывшую питательную среду. Микроскопия клеток, взятых из вырастающих колоний, а также высевы на различные среды, позволяли проверить чистоту выделенных культур.

Изолированные культуры

Для получения накопительных культур термофилов были применены питательные среды, богатые органическими, преимущественно азотсодержащими, веществами. Целесообразность применения таких сред объяснялась экологическими особенностями тех микроорганизмов, которые развивались в метан-тэнке. Длительное размножение в среде, содержащей очень большое количество разнообразных органических веществ, не могло не отразиться на физиологии микробов. Такой экологический подход при выборе сред оправдал себя полностью. Развитие термофильных пектиновых бактерий происходило главным образом на средах, содержащих фильтрат жидкости из метан-тэнка. При заражении картофельной крошки или снопиков льна, находящихся в этой среде, полуразрушенной картофельной мезгой или вымоченной соломой льна, взятых из метан-тэнка, неоднократно наблюдалось развитие пектиновых бактерий. Аналогичные посевы почвы или конского навоза ни разу не дали возможности получить накопительную культуру термофильных бактерий, разлагающих пектин. Таким образом, быстрое разложение пектина в

метан-тэнке не может быть объяснено действием ферментов, так как из вымоченного в этих условиях льна можно получить накопительные культуры термофильных бактерий, сбраживающих пектин. В дальнейшем из различных накопительных культур были получены три чистые культуры термофилов. Хотя они и были выделены из различных источников, их морфологические и культуральные особенности были сходными. Поэтому ограничимся описанием одной культуры, именно культуры Е.

Рис. 2. Морфологические изменения клеток термофильных пектиновых бактерий при спорообразовании

Молодые вегетативные клетки имеют форму палочек с закругленными концами, 0,6 × 0,7 μ × 2,3 — 3,4 μ величины. Вегетативные клетки иногда слегка дугообразно изогнуты (рис. 2). В жидкой среде, например, картофельной крошке, клетки располагаются одиночно, тогда как в колониях, вырастающих в толще плотной среды, клетки образуют длинные переплетающиеся цепочки или петли (рис. 3). В дальнейшем клетки утолщаются и удлиняются. Это служит первым признаком перехода клеток к спорообразованию. В удлиненных клетках появляется интенсивно красящееся зерно — проспора, которая постепенно увеличивается (рис. 2). Затем проспора превращается в зрелую, неокрашивающуюся, овальную спору, располагающуюся субтерминально или терминально (рис. 2). Остатки вегетативной клетки постепенно утончаются и укорачиваются, и у зрелой споры видны «придатки», представляющие собой еще не полностью резорбированную клетку (рис. 2). В дальнейшем спора становится свободной. В клетках, приступивших к спорообразованию, нередко окрашиваются поперечные хромофильные зоны (поперечные пояски, рис. 2), описанные одним из нас в клетках Granulobacter pectinovorum, и, повидимому, нередко встречающиеся у различных анаэробных спороносных бактерий. Размеры зрелых плектридиальных форм 0,9—1,1 μ × 3,9—5,4 μ. Величина свободных спор 1,2 μ × 1,7 μ. Клетки хорошо окрашиваются основными красками, грамотрицательны. В более старых колониях, находящихся в толще агаровой среды, много клеток, дающих с иодом положительную реакцию на гранулезу. Вначале у несколько утолщенных и удлиненных клеток окрашиваются в синий цвет отдельные зерна (рис. 4, а). Затем по мере образования вздутия на конце клеток, происходящего в связи с образованием спор, все чаще и чаще синий цвет от иода начинают приобретать все клетки в целом (рис. 4, *б*).

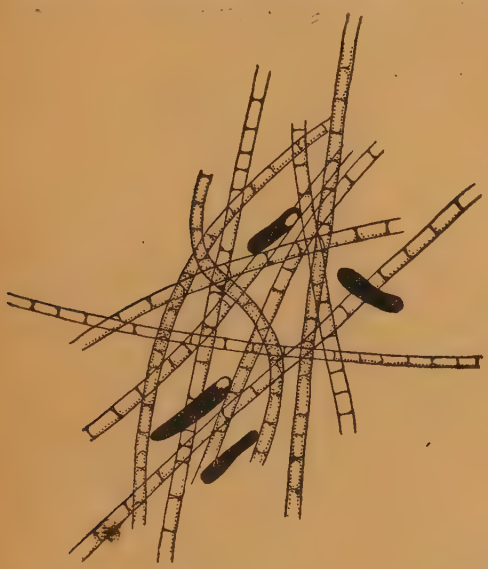


Рис. 3. Раздавленная хлопьевидная колония термофильных пектиновых бактерий, обработанная иодом. Единичные клетки дают реакцию на гранулезу

При образовании спор остатки вегетативных клеток продолжают давать положительную реакцию на гранулезу (рис. 4, *c*). Иногда созревание клеток в колонии происходит неравномерно, и на фоне более молодых, образующих переплетающиеся цепочки клеток, не содержащих еще гранулезу, видны единичные клетки, окрашивающиеся от иода в синий цвет (рис. 3).

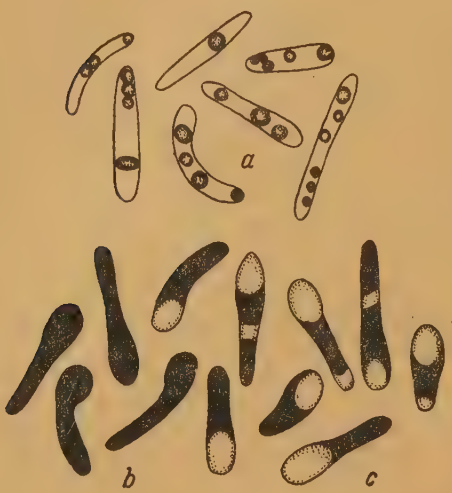


Рис. 4. Клетки термофильных пектиновых бактерий, содержащие гранулезу (реакция с иодом). *a* — начальные стадии образования спор. В клетках единичные зерна гранулезы; *b* — молодые плектридии. Диффузная окраска клеток; *c* — клетки с неокрашенными зрелыми спорами. Остатки вегетативных клеток содержат гранулезу

При развитии изолированной культуры на картофельной крошке наблюдается бурное брожение и кусочки картофеля всплывают наверх.

Колонии в толще картофельного или глюкозного агара имеют хлопьевидный, «пушистый» характер. От более плотного центра колонии отходят многочисленные отростки, нити, которые и придают всей колонии характерный вид небольших комочков ваты (рис. 5). Колонии образуются также в толще МПА. В аэробных условиях культура не развивается на МПА, МПБ и картофельном агаре. В молоке в анаэробных условиях также нет роста. Растет на агаровой желатине с глюкозой, но желатину не разжижает.

Изолированная культура сбраживает глюкозу, левулезу, мальтозу и арабинозу и не сбраживает лактозы, крахмала, глицерина, маннита, сорбита и инулина. Хорошее развитие на различных средах при 56°, слабое при 37°. Полное отсутствие роста при 27°. Культуры выделены из соломы льна, находившейся в термофильном метан-тэнке.

По своим морфологическим и культуральным признакам изолированная бактерия очень близка с Bac. felsineus. Особенно характерна история развития, реакция на гранулезу и внешний вид глубинных колоний. Однако существуют и некоторые различия между этими организмами.

Так, судя по литературным данным, Bac. felsineus сбраживает лактозу и хорошо развивается в молоке, вызывая его свертывание. Описываемая бактерия этой способностью не обладала. Отношение к другим углеводам у обоих организмов совпадает. Что касается отсутствия разжижения желатины в культурах термофильной бактерии, то не исключена возможность, что длительное существование на средах, богатых растворимыми соединениями азота, привело к ослаблению этой функции. Проведенное нами сравнительное изучение морфологических и культуральных признаков у выделенной термофильной бактерии и Bac. felsineus позволило отнести термофила к Bac. felsineus. Однако некоторые

физиологические особенности побуждают рассматривать термофильный организм как разновидность и присвоить ему следующее название: Bacillus felsineus var. thermophilus.

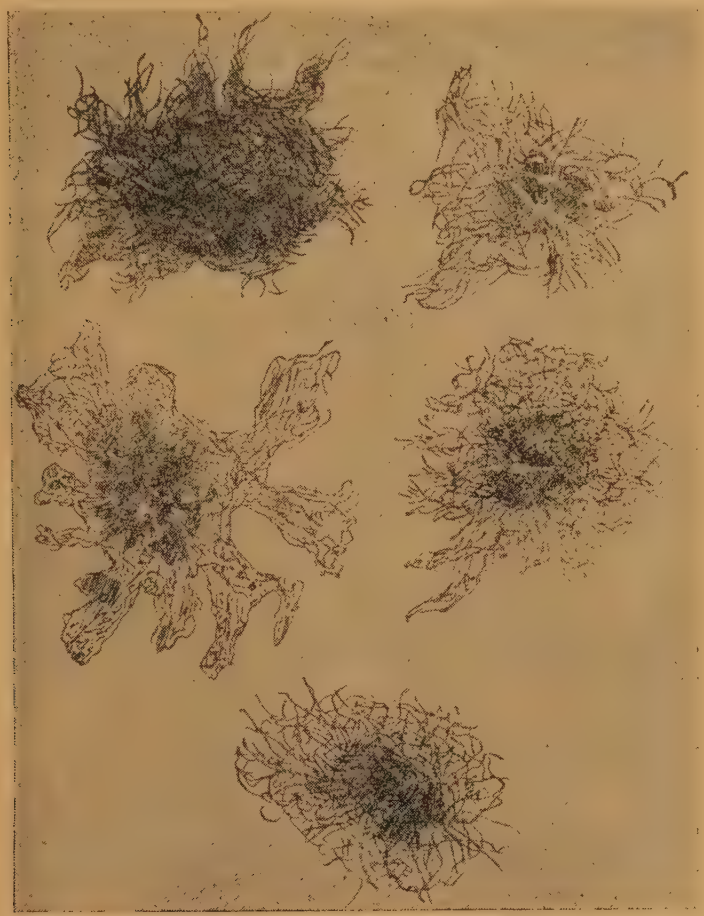


Рис. 5. «Пушистые» колонии термофильных пектиновых бактерий, выросшие в толще картофельного агара при 55°. Возраст колонии 48 часов; размер 400—600 μ в диаметре

Чистые культуры пектиновых бактерий, изолированные из термофильных метан-тэнков, вначале сбраживали пектин и вызывали мочку льна В дальнейшем при пассажах их биохимическая активность падала и они все медленнее сбраживали пектин. Ослабление активности культур Вас. felsineus в лабораторных условиях — явление хорошо известное. Вполне вероятно, что потребность термофильных пектиновых бактерий, привыкших развиваться в такой исключительной по своему составу среде, как жидкость метан-тэнков, в различных витаминах и источниках азотистого питания значительно выше, чем у мезофильных форм пектиновых бактерий. Такая возможность вполне вероятна. Это видно из работ Иерусалимского, который экспериментально доказал бóльшую потребность в витаминах термофильных рас маслянокислых бактерий по сравнению с мезофильными. Более углубленное изучение физиологии питания различных экологических рас одного и того же вида микроорганизмов — задача будущих исследований.

Заключение

Теоретически нельзя отрицать возможность возникновения термофильного варианта у любого вида бактерии. Нахождение в среде с повышенной температурой приводит к образованию таких форм у самых различных видов. Однако у одних групп такое приучение происходит чаще, у других реже. Так, значительная часть термофильных микроорганизмов представлена спороносными формами. Повидимому, способность переносить очень высокие температуры, связанная с образованием спор, оказывается весьма ценной для микробов, развивающихся в условиях, когда температура среды может значительно повышаться. Изучая на протяжении ряда лет термофильные бактерии, мы могли убедиться в том, что многие термофилы являются не отдельными, стоящими обособленно, видами, а представляют собой только термофильные варианты уже хорошо известных видов. Так, при сопоставлении мезофильных анаэробных бактерий, сбраживающих целлюлозу с термофильными, выяснилось, что они отличаются только по своему отношению к температуре. Все другие их свойства совпадают. Подчеркивая различное отношение к температуре, необходимо указать, что речь идет о перестройке всей физиологии организма, так как при возникновении термофильных вариантов идет приспособление не к температуре, а к жизни в новых условиях среды, особенности которой при повышенной температуре совершенно иные. Исходя из предположения, что мезофильные бактерии, приспосабливаясь к повышенной температуре, могут давать термофильные варианты, необходимо при определении систематического положения термофила прежде всего установить — не существует ли такой же вид среди описанных мезофильных бактерий. Такой подход позволит в дальнейшем значительно сократить, а может быть и ликвидировать термофильную группу бактерий, которая существует, например, в определителе бактерий Бердже. Подход, о котором идет речь, оказался правильным, и ряд протеолитических термофильных бактерий, изолированных Броцкой [1], удалось идентифицировать с уже известными мезофильными видами. Ей удалось также изолировать термофильный вариант такого характерного микроорганизма, как Bac. mycoides. Приведенный в этой статье экспериментальный материал подтверждает возможность образования термофильных форм и у других видов, в частности, у Bac. felsineus. Таким образом, уже имеется ряд спороносных видов бактерий, у которых известны как мезофильные, так и термофильные варианты. К ним относится Bac. mycoides, целлюлозная анаэробная бактерия Bac. Omelianskii, Clostridium Pasteurianum (Bac. amylobacter), Bac. felsineus и ряд других. Образование таких приспособленных к определенным условиям жизни форм полностью определяется характером внешних условий. Последнее подтверждается тем, что все наши попытки выделить термофильные бактерии, сбраживающие пектин с поверхности льна, а также из почвы и навоза, не увенчались успехом. Однако такое выделение удалось произвести в условиях метан-тэнка, т. е. по сути дела в условиях крупного эксперимента, так как именно в метан-тэнке и произошло возникновение термофильного варианта Bac. felsineus. Повидимому, для превращения мезофильной формы в термофильную в этих условиях потребовалось меньше времени, чем в соответствующих лабораторных исследованиях.

Выводы

1. При исследовании большого числа образцов льна ни разу не удалось выделить термофильных бактерий, сбраживающих пектин. Так же отсутствуют эти бактерии в почве.

2. В условиях термофильного метан-тэнка происходит быстрое разложение пектина картофеля и льна. Мочка льна заканчивается за двадцать один час.

3. Из льна, вымоченного при высокой температуре, были выделены и изучены три чистые культуры анаэробных бактерий. Более подробное изучение одной из них позволило установить ее большое сходство с Bac. felsineus. Ввиду некоторых физиологических отличий бактерия описана как Bac. felsineus var. thermophilus.

4. Условия жизни определяют возникновение термофильных вариантов у мезофильных бактерий, и уже известен ряд видов, имеющих как мезофильные, так и термофильные формы.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 29.III.1950

ЛИТЕРАТУРА

1. Броцкая С. Термофильные протеолитические бактерии IV. Морфология и физиология. Микробиология, XVI, 213, 1947.
2. Имшенецкий А. Микробиологические процессы при высокой температуре, М.—Л., 1944.
3. Имшенецкий А. и Солнцева Л. Термофильные маслянокислые бактерии, Микробиология, XIV, 324, 1945.
4. Логинова Л. Адаптация дрожжей. Кратковременное действие внешних факторов. Микробиология, XIV, 310, 1945.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ УКСУСНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ BACT. SCHÜZENBACHII

И. М. Шацкая

По изучению Мичурина — Лысенко основную роль в развитии организмов играют факторы внешней среды, которые во взаимодействии с организмом обусловливают его развитие, его изменчивость.

Известно, что под влиянием высоких или низких температур, различных условий питания и других причин изменяются свойства микробов, наблюдается появление индивидуумов с новыми качествами [3, 4, 5, 9]. Отбором и воспитанием удается закрепить требуемые качества, получать новые наследственные признаки [9]. Этот прием направленной изменчивости и искусственного отбора находит широкое применение во всех областях микробиологии: в медицинской, сельскохозяйственной, промышленной. Например, получение авирулентного штамма туберкулезной палочки (BCG), отбор ароматообразующих бактерий в маслоделии, применение особых рас дрожжей, плесеней и т. д. для технических и медицинских целей.

Изменчивость уксуснокислых бактерий Bact. Schüzenbachii нам удалось наблюдать в естественных условиях — в чанах уксусного завода.

Изучение микрофлоры образователей Киевского уксусного завода [8] дало возможность установить, что при высеве из соскоба стружек на сусловый агар со спиртом вырастали колонии уксуснокислых бактерий, отличавшиеся друг от друга по своим культуральным особенностям. Детальные исследования разных колоний показали, что они принадлежали одному виду бактерий. Кроме того, ряд штаммов, выделенных из образователей, при длительном хранении в лабораторных условиях давал варианты, идентичные колониям, выросшим при непосредственном посеве соскоба стружек. Все это наводило на мысль, что как в лабораторных условиях, так и, очевидно, в производственных образователях различные колонии являются лишь вариантами одного и того же вида уксуснокислых бактерий. Особенно привлекало наше внимание то обстоятельство, что колонии с сухой матовой, складчатой поверхностью (шероховатый вариант) чаще оказывались более активными кислотообразователями и отличались большей интенсивностью роста по сравнению с другими вариантами. Этот факт шел в разрез с общеустановленным в микробиологии представлением, что наибольшей вирулентностью и наибольшей активностью отличаются культуры колоний с гладкой, блестящей поверхностью (гладкий вариант), а культуры шероховатого варианта рассматриваются в большинстве случаев как деградирующие, вырождающиеся, мало жизнеспособные.

Обнаруженный мной факт требовал изучения.

Указанное явление представляло безусловный интерес с теоретической точки зрения, кроме того могло дать определенные результаты и для практики, ибо варианты с большей кислотообразующей способностью могли бы найти применение в производстве спиртового уксуса.

Учитывая все сказанное, мы приступили к изучению изменчивости Bact. Schüzenbachii, одного из двух основных видов, применяющихся в производстве спиртового уксуса.

Экспериментальная часть

Пять культур вида Bact. Schüzenbachii (№№ 1, 2, 3, 4, 5) были выделены нами в различное время из заводских образователей и находились в лабораторных условиях от шести месяцев до двух лет. Чистые культуры были получены методом 10-кратного рассева из одной колонии на чашках Петри с сусло-агаром + 3% этилового спирта. У всех штаммов исследовались культуральные, морфологические особенности, характер пленки, способность ее окрашиваться иодом, подвижность клеток (на жидком сусле 7° Бал. + 3% этилового спирта), окисление углеводов и спиртов (в средах Гисса) и активность кислотообразования (на среде № 1 и среде № 2 [1]).

Изменчивость Bact. Schüzenbachii вызывалась влиянием факторов, имеющих место в уксусном производстве, главным образом под влиянием старения в средах с различной кислотностью.

С этой целью исследуемые уксуснокислые бактерии культивировались: 1) на косом сусло-агаре с 3% этилового спирта в течение 2—3 месяцев при 15—18° и 2) в 2-х жидких средах (№ 1 и № 2) от 1 до 8 месяцев.

Систематические высевы культур, хранившихся в вышеуказанных условиях, на чашки Петри с сусло-агаром с 3% спирта давали возможность установить изменчивость исследуемых уксуснокислых бактерий.

Исследование культуры № 1

В момент получения эта культура образовывала выпуклые колонии 2—3 мм в диаметре, с гладкой, блестящей поверхностью, с желтоватым центром и ровными или слегка зазубренными краями.

Основная масса клеток — палочки, одиночные и по две, большей частью изогнутые, реже небольшие цепочки (размер 0,5—0,8 $\mu \times$ 1—1,8 μ). Изучение кислотопродукции культуры № 1 в средах № 1 и № 2 показало, что накопление кислоты в обеих средах происходит с разной интенсивностью: в среде № 1 образовалось 2,3% уксусной кислоты к седьмому дню роста, в среде № 2 — только 1,5% за то же время.

Нужно отметить, что в среде № 2, где первоначальное содержание уксусной кислоты составляло 2,5%, у всех исследуемых культур наблюдалось более медленное развитие пленки, нежели в среде № 1, содержавшей 1,5% уксусной кислоты. Лишь при перенесении кусочка пленки со среды № 1 на поверхность среды № 2 наблюдалось интенсивное развитие пленки. Но и в этом случае накопление уксусной кислоты в среде № 2 было менее энергичным. Возможно, что наличие в среде 2,5% уксусной кислоты и 5% этилового спирта не только задерживало развитие, но и угнетающе действовало на ферментативную способность исследуемых бактерий.

Активность и динамика кислотообразования культуры № 1 представлена на рис. 1.

При высеве культуры № 1 с жидких сред № 1 и № 2 8-месячной давности и с скошенного в пробирках сусло-агара и 3-месячной давности на чашки Петри, наряду с колониями, свойственными основному штамму, вырастали колонии иного типа.

Это были более плоские, неправильной формы, растекающиеся колонии. У этих колоний через 2—3 суток поверхность тускнела, станови-

---

[1] Среда № 1: пивное сусло 7° Бал., 1,5% уксусной кислоты и 4% этилового спирта, pH — 3,4.

Среда № 2: пивное сусло 7° Бал., 2,5% уксусной кислоты и 5% спирта, pH — 3,2.

лась мелкоскладчатой. А еще через некоторое время поверхность становилась крупноскладчатой, а консистенция более плотной (рис. 2).

При многочисленных рассевах крупноскладчатых колоний наблюдалось появление единичных колоний с сухой, матовой, складчатой поверхностью. Из последних колоний нам удалось селекционировать колонии шероховатого варианта.

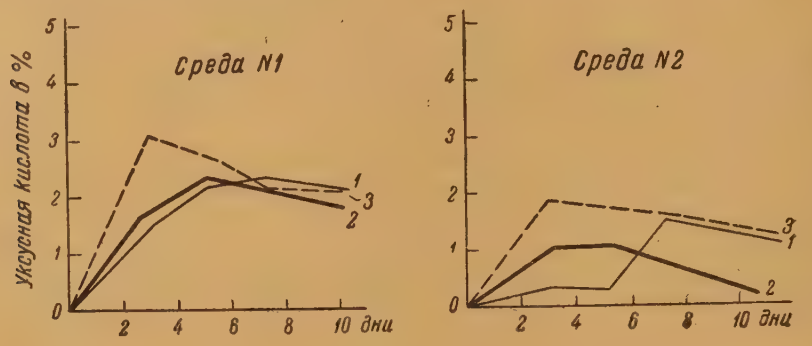


Рис. 1. Активность и динамика кислотообразования культуры № 1 и ее вариантов

1 — основная культура № 1; *2*— гладкий вариант; *3* — шероховатый

Селекция культур проводилась следующим образом. Колонии, отличавшиеся определенными характерными особенностями, высевались на большое количество чашек Петри (30—40). Из колоний тех культур, которые интересовали нас, производился снова посев на чашки Петри. Такие посевы с последующим отбором культур производились до тех пор, пока на чашках Петри вырастали исключительно отбираемые колонии.

При рассевах колоний шероховатого варианта в единичных случаях вырастали колонии гладкого варианта. Селекцией таких колоний был получен стойкий гладкий вариант культуры № 1.

Свойства шероховатого варианта культуры № 1

Колонии шероховатого варианта выпуклые, до 3—4 мм в диаметре, желтоватого цвета, с сухой, матовой, складчатой поверхностью, в проходящем свете — мутные, с зазубренными краями. Они снимались с агара целиком; при растирании на стекле не давали равномерной взвеси (рис. 3).

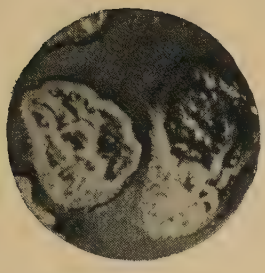
Колонии шероховатого варианта состояли из палочек с заостренными концами и значительного количества укороченных клеток: к 8—10 дню роста появились гипертрофированные и кокковые формы (0,42 × 2,5 × 1,2 μ).

Культура шероховатого варианта давала положительную реакцию с реактивом Миллона (кирпично-красный цвет), агглютинировалась в водном растворе NaCl (от 0,2 до 0,85%).

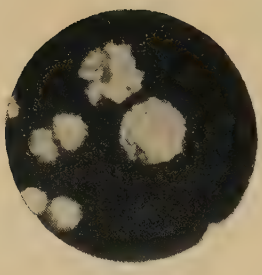
В отличие от основной культуры № 1 шероховатый вариант обладал способностью чрезвычайно быстрого роста и быстрого развития пленок в жидких средах. Уже через 1—2 дня в средах № 1 и № 2 хорошо развивалась серовато-белая, хрупкая пленка, оставляя жидкость прозрачной. Стареющая пленка становилась сплошной, складчатой.

Динамика кислотообразования шероховатого варианта культуры № 1 представлена кривой (рис. 1).

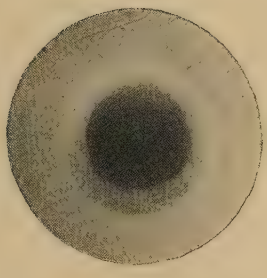
Как показывает кривая, культура шероховатого варианта через 3 суток роста в среде № 2 образует 3% уксусной кислоты, в то время



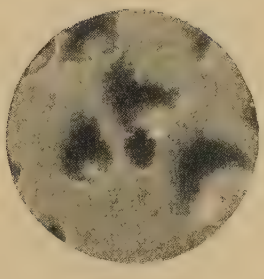
2



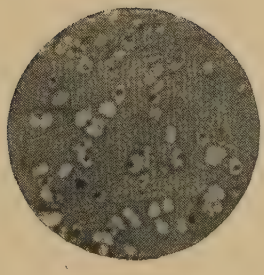
3



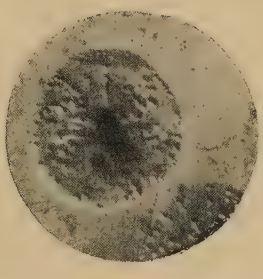
4



5



6



7

Рис. 2—7

как основная культура № 1 в той же среде образовала 2,3% уксусной кислоты лишь через 7 суток.

Свойства гладкого варианта культуры № 1

Как уже упоминалось, нами был селекционирован стойкий гладкий вариант культуры № 1. Колонии гладкого варианта плоско-выпуклые, с гладкой, блестящей поверхностью и ровным краем, в проходящем свете — голубоватые, с желтоватым центром, до 1—2 мм величиной. Колонии гладкого варианта состоят из палочек одиночных, расположенных по две, и из коротких цепочек ($0{,}8 \times 1{,}8 \times 0{,}5$ μ) (рис. 4).

По характеру роста и образованию пленки культура гладкого варианта резко отличалась от шероховатого. Развитие пленки очень медленное. Образование ее наблюдалось через 2—3 недели. Пленка беловатая, рыхлая; жидкость под пленкой мутная. Культура гладкого варианта давала отрицательную реакцию с реактивом Миллона (желтый цвет). В водном растворе NaCl (от 0,2 до 0,85%) не агглютинировалась. Колонии легко растирались на стекле и давали равномерную взвесь. Максимальное количество уксусной кислоты — 2,25% продуцировано культурой через 5 суток роста в среде № 1 (рис. 1).

При высеве через 2—3 месяца роста культуры гладкого варианта из среды № 1 на чашки Петри с сусло-агаром +3% спирта наблюдалось интересное явление. Вырастали колонии в виде полулуний, сердцевидные с зазубренными краями (рис. 5). Все они состояли из резко полиморфных клеток: дрожжевидных, шаровидных и т. п. И характер колоний, и морфология клеток, и медленное развитие пленок наводило на мысль о наличии бактериофага в культуре гладкого варианта штамма № 1. И действительно, когда фильтратом культуры гладкого варианта на жидком сусле с 3% спирта подействовали на эту же 24-часовую культуру, то на одном из секторов агара были получены 2 стерильных пятна. Бактериофаг нам выделить не удалось.

Изучение изменчивости культуры № 2

При высеве культуры № 2 в чашки Петри со сред № 1 и № 2 через 3 месяца роста выросли колонии: 1) идентичные первоначально выделенным, 2) с гладкой поверхностью, 3) слизистые, 4) колонии шероховатого варианта.

Из колоний шероховатых был селекционирован стойкий шероховатый вариант культуры № 2. Кроме колоний шероховатого варианта удалось также селекционировать стойкий гладкий, а также слизистый вариант культуры № 2.

По своим культуральным и морфологическим особенностям, характеру и быстроте развития пленок, окислению углеводов и спиртов культуры шероховатого и гладкого вариантов штамма № 2 были вполне идентичны культурам тех же типов вариантов культуры № 1, поэтому на описании их останавливаться не будем.

Значительно отличался от вышеупомянутых вариантов, а также от основного штамма, слизистый вариант. На описании последнего остановимся подробнее.

Колонии слизистого варианта культуры № 2 резко выпуклы, с желтоватым центром и большой, сочной, опаловомутной периферией, с резко очерченным правильным краем, величиной до 4—5 мм. Клетки колоний 3—4-дневного возраста большей частью короткие палочки и кокковые формы, заключенные в капсулы (рис. 6). Через 15—20 дней роста в колониях слизистого варианта культуры № 2 наблюдалось образование дочерних колоний (рис. 7). Последние состояли исключительно из кокковых форм.

При рассеве дочерних колоний на чашки Петри с сусло-агаром снова вырастали типичные колонии слизистого варианта.

В жидких средах слизистый вариант образовывал рыхлую, беловатую, слегка слизистую, довольно мощную пленку. Развитие последней наступало через 6—8 дней. Жидкость под пленкой мутноватая. Активность и динамика кислотопродукции этих вариантов, а также основной культуры № 2, представлена кривыми на рис. 8.

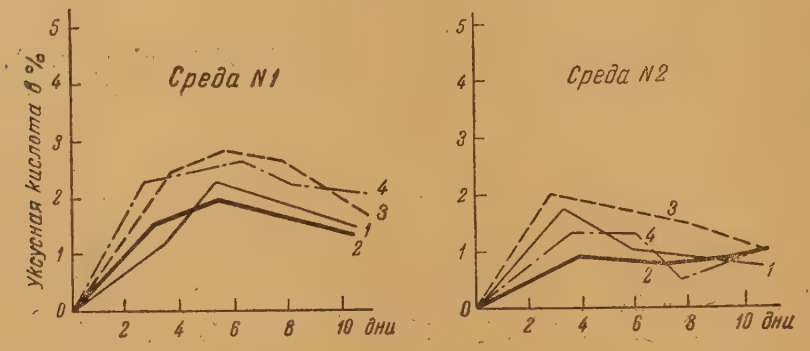


Рис. 8. Активность и динамика кислотообразования культуры № 2 и ее вариантов

1 — основная культура № 2; *2* — гладкий вариант; *3* — шероховатый вариант; *4* — слизистый вариант

Исследование изменчивости культур № 3, № 4 и № 5

При высеве культуры № 3 из сусло-агара с 3% спирта через 2 месяца роста, а также со сред № 1 и № 2 через 4 месяца, в чашках Петри наблюдались колонии шероховатого варианта. Однако через 6—7 дней роста большая часть этих колоний окружалась слизистым ободком, который через 2—3 дня настолько разрастался, что вся колония погружалась в слизь. Рассев отдельных ослизнившихся колоний выявил колонии трех типов: шероховатый вариант (главная масса), слизистый вариант (единичные) и гладкий вариант (единичные). Из

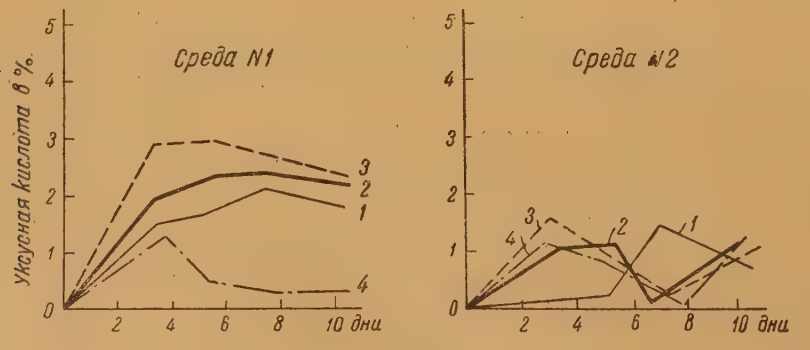


Рис. 9. Активность и динамика кислотообразования культуры № 3 и ее вариантов

1 — основная культура № 3; *2* — гладкий вариант; *3* — шероховатый вариант; *4* — слизистый вариант

колоний каждого типа были селекционированы три стойких варианта: шероховатый, гладкий и слизистый. Культуральные и морфологические особенности, характер роста и образования пленок, свойство вызывать

помутнение жидкости — вполне совпадали с указанными особенностями вышеописанных вариантов у других культур. Как и у предыдущих штаммов, самым активным являлся шероховатый вариант (2,98% уксусной кислоты через 5 суток роста), за ним следует гладкий вариант (2,37% уксусной кислоты) и самым слабым кислотопродуцентом оказался слизистый вариант штамма № 3 (рис. 9).

У культуры № 4 выросли колонии шероховатого варианта при высеве с косого сусло-агара 3-месячной давности, а также со сред № 1 и № 2 через 4 месяца роста в них. Колоний других типов не наблюдалось.

Из шероховатых колоний этой культуры был селекционирован стойкий шероховатый вариант.

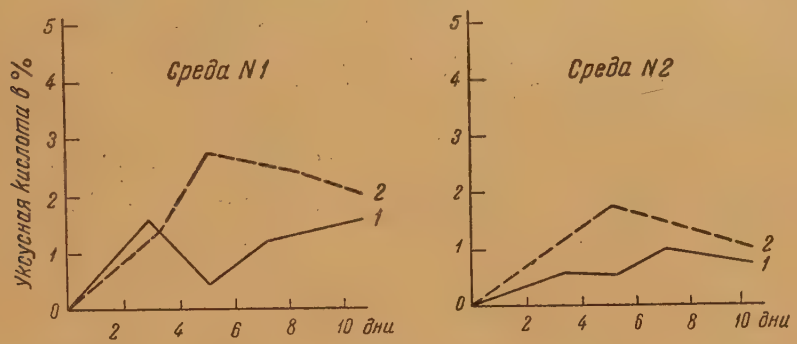


Рис. 10. Активность и динамика кислотообразования культуры № 4 и ее вариантов

1 — основная культура № 4; *2* — шероховатый вариант

Кривая (рис. 10), изображающая кислотопродукцию шероховатого варианта культуры № 4, показывает, что и в этом случае шероховатый вариант активнее основной культуры.

При высевах со сред № 1 и № 2, а также с косого сусло-агара у культуры № 5 Bact. Schüzenbachii появление колоний с различными свойствами не наблюдалось.

Обсуждение результатов

В лабораторных условиях, под влиянием старения и разных количеств уксусной кислоты в среде наблюдались изменения свойств культур Bact. Schüzenbachii.

Селекционированы стойкие гладкие, шероховатые и слизистые варианты. Эти варианты отличались от исходных культур рядом особенностей: характером и быстротой развития пленки, кислотопродукцией, свойством агглютинироваться в растворах NaCl и т. п.

Все эти новые качества вариантов стойко передавались по наследству в течение длительного времени наблюдения.

Наиболее быстрой активной кислотопродукцией обладали шероховатые варианты культур № 1, № 3 и № 4.

Селекция слизистых вариантов Bact. Schüzenbachii представляет не только теоретический интерес. До сих пор рядом исследователей указывалось, что лишь определенная группа уксуснокислых бактерий, как например, Bact. xylinum, Bact. xylinoides и иногда Bact. orleanense (Henneberg [10]) способны образовывать слизистые культуры.

Очевидно, при определенных условиях культивирования Bact. Schüzenbachii также способна давать слизистые варианты.

Превалирование того или иного варианта в культуре обусловливает характер развития всего клона.

Следует отметить, что в отличие от вышеупомянутых слизистых культур (Bact. xylinum, Bact. xylinoides, Bact. orleanense), образующих плотные хрящевидные пленки, слизистый вариант Bact. Schüzenbachii дает рыхлую пленку, легко разрывающуюся петлей.

Анализируя интенсивность развития и динамику кислотообразования исследуемых культур (основных и их вариантов) в средах № 1 и № 2 можно отметить следующее: 1) у всех культур наблюдается процесс переокисления на обеих средах, 2) замедленный рост и менее интенсивное кислотообразование на среде № 2.

Процесс переокисления на среде № 1 может быть объяснен как результат полного использования спирта (так как спирт к среде в процессе брожения не добавлялся).

В среде № 2, содержавшей более высокую концентрацию уксусной кислоты — 2,5%, процесс развития бактерий и тесно связанного с ним кислотообразования тормозился.

Тормозящее влияние 2,5% уксусной кислоты при pH-3,2 (а начальный pH среды № 2 равен 3,2) было показано опытами Дратвиной [2]. В результате неблагоприятного влияния pH среды № 2 мы наблюдаем и более резкий процесс переокисления. Очевидно, при pH-3,2, неблагоприятном для развития уксуснокислых бактерий, скорее протекает процесс окисления уксусной кислоты.

Выводы

1. Стойкие шероховатые варианты были получены у четырех штаммов, гладкие варианты у трех штаммов, слизистые варианты у двух штаммов.

2. Колонии шероховатого варианта сухие, желтоватые, складчатые, снимались с агара целиком, давали положительную реакцию с реактивом Миллона и агглютинировались в водном растворе NaCl (от 0,2 до 0,8%). Они состояли из резко полиморфных клеток от мельчайших кокковых до гипертрофических форм. Культура шероховатого варианта отличалась более быстрым ростом и быстрым образованием пленок в жидких средах по сравнению с основным штаммом и другими вариантами. Жидкость под пленкой оставалась прозрачной.

3. Гладкий вариант представлял колонии с гладкой блестящей поверхностью, ровным краем, в проходящем свете — с голубоватым ободком и желтоватым центром, давал отрицательную реакцию с реактивом Миллона и равномерную суспензию в водном растворе NaCl (от 0,2 до 0.85%). Полиморфизм у клеток гладкого варианта не наблюдался. Культура гладкого варианта отличалась более замедленным ростом и развитием пленки в жидких средах по сравнению с шероховатым вариантом и основным штаммом. Гладкий вариант вызывал помутнение среды.

Колонии слизистого варианта резко выпуклые, опаловомутные с желтоватым центром и ровным краем. Клетки полиморфны и заключены в капсулы. В быстроте роста и образования пленки слизистый вариант уступал шероховатому варианту. Слизистый вариант вызывал помутнение среды.

4. Культуры шероховатого, гладкого и слизистого вариантов исследуемых штаммов отличались друг от друга активностью и динамикой кислотообразования. Наиболее быстрым и активным кислотопродуцентом у всех исследуемых штаммов являлся шероховатый вариант.

Всесоюзный научно-исследовательский институт
консервной промышленности
Москва

Получено 7. X. 1949.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дратвина Т. В. Окисление уксуснокислыми бактериями спирта и уксусной кислоты в зависимости от pH и условий среды. Микробиология, VI, вып. 4, 1937.
2. Дратвина Т. В. и Алтынникова А. С. Зависимость производительности уксуснокислых бактерий от активной кислотности среды. Сб. научно-исслед. работ сектора органических кислот. ЦНИЛБ, 1940.
3. Иерусалимский Н. Д. Связь между кислотообразованием и развитием уксуснокислых бактерий. Микробиология, VIII, 160, 1939.
4. Имшенецкий А. А. Изменчивость бактерий. Микробиология, V, вып. 1, 1941.
5. Имшенецкий А. А. Экспериментальная изменчивость микроорганизмов. Успехи современной биологии. XXI, 45, 1946.
6. Непомнящая М. Л. Изменчивость Bac. saccharoliticus Мінливість мікробів і бактеріофагія. Вид. Ак. Наук УРСР, 1939.
7. Шаїнська И. М. Біохемичні властивості оцетоковислих бактерий. Мікробіол. журнал ВУАН, V, 63, 1936.
8. Шаїнська И. М. До питання мікробіології оцетового виробництва. Мікроб. журн. ВУАН, I, 181, 1934.
9. Шаїнська И. М. Селекція активных варіантів оцетовокислых бактерий. Микроб. журнал ВУАН, II, 103, 1935.
10. Henneberg W. Handb. der Gärungsbakteriologie, 1926.

ПРОТЕОЛИЗ ПШЕНИЧНОЙ МУКИ МОЛОЧНОКИСЛЫМИ БАКТЕРИЯМИ ТЕСТА

М. Н. Тульчинский

Изучение микофлоры теста Селибером, Бычковской и Вольфсон [4] дало возможность установить специфические микроорганизмы теста. Нами [5] было продолжено изучение молочнокислых бактерий теста, которое привело к внедрению этих микроорганизмов в производство при приготовлении хлеба. В дальнейшем автором [6] было показано влияние этих микроорганизмов на состав кислот и вкусовую кислотность ржаного хлеба, а также было установлено, что прибавление к тесту молочнокислых бактерий группы А (по классификации Селибер) вместе с «жидкими» дрожжами увеличивает в пшеничном хлебе содержание ацетилметилкарбинола, обусловливающего, повидимому, в известной мере вкусовые качества хлеба [7].

Исследования Проскурякова [2], Проскурякова и Бундель [3], Ауэрмана [1] показали важное значение протеолитических ферментов и их активаторов (глютатион, цистеин) при оценке хлебопекарных качеств пшеничной муки. Было также отмечено значение дрожжей как носителей активаторов протеолитических ферментов муки.

Что касается молочнокислых бактерий, принимающих участие в процессе брожения теста, количество которых в несколько раз превышает содержание дрожжей, то их значение как носителей протеолитических ферментов не установлено.

Настоящая работа и была проведена нами с целью изучения протеолиза пшеничной муки в присутствии некоторых групп молочнокислых бактерий теста.

Экспериментальная часть

Протеолиз пшеничной муки 1-го сорта проводили в присутствии молочнокислых бактерий теста групп А (Streptobacterium plantarum), В (Betabacterium), С (Thermobacterium).

Характеристика муки. Влажность 10,0%, количество сырой клейковины 42,0%, кислотность 1,9°Н, диастатическая сила (по Рамзай) 181,0, качество клейковины — удовлетворительное.

Протеолиз муки учитывали по накоплению водорастворимых азотистых веществ при следующих условиях: в колбу Эрленмейера емкостью на 250 мл помещали 10 г пшеничной муки, 100 мл дестиллированной воды и 0,2 г отцентрифугированного и дважды промытого дестиллированной водой осадка четырехсуточной культуры молочнокислых бактерий, выращенной на пивном сусле 10° Блг. Затем колбу ставили на водяную баню с температурой 30° на 2 часа, тщательно перемешивая содержимое ее через каждые 15 минут. Смесь центрифугировали в течение 5 минут.

Содержание водорастворимых азотистых веществ определяли в 20 мл центрифугата. Определение азота проводили по методу Кьельдаля, одновременно определяли содержание водорастворимых азотистых веществ в контроле (мука + вода) и во внесенных культурах бак-

терий. Полученные данные, за вычетом азота, внесенного вместе с бактериями, приведены в табл. 1.

Таблица 1

Накопление водорастворимых азотистых веществ в водной суспензии пшеничной муки с добавлением чистых культур молочнокислых бактерий теста и в контроле

№ серии опытов	Условия опыта	Содержание водорастворимых азотистых веществ в мг в пересчете на 20 г муки	
		с прибавлением бактерий	в контроле (мука + вода)
1	Бактерии группы А	82,6	72,4
	„ „ В	86,1	
	„ „ С	126,0	
2	„ „ А	75,6	72,4
	„ „ В	76,3	
	„ „ С	97,3	
3	„ „ А	81,3	73,5
	„ „ В	84,8	
	„ „ С	112,4	
4	„ „ А	84,3	72,9
	„ „ В	80,0	
	„ „ С	166,0	
	„ „ С (прокипяченные)	74	

Так как в опыте с бактериями группы С мы получили большое накопление водорастворимых азотистых веществ муки, то предсгавляло интерес выяснить, происходит ли такое сильное протеолитическое воздействие бактерий за счет содержания в них протеолитических ферментов или за счет активаторов последних. Для этой цели был поставлен опыт с прокипяченными бактериями группы С. Полученные данные приведены в табл. 1. Параллельно наблюдениям над протеолизом по накоплению водорастворимых азотистых веществ муки проводилось опре-

Таблица 2

Количество сырой и сухой клейковины в тесте при добавлении дрожжей, чистой культуры молочнокислых бактерий теста и в контроле

№ серии опытов	Условия опыта	Содержание клейковины в %		Цвет клейковины
		сырая	абсолютно сухая	
1	Бактерии группы А	38,75	14,00	Темножелтый
	„ „ В	32,70	12,15	Желтый
	„ „ С	11,95	4,55	„
	Прессованные дрожжи	38,35	13,00	Светложелтый
	Контроль без дрожжей и бактерий	42,60	14,15	„
2	Бактерии группы А	38,60	13,90	Темножелтый
	„ „ В	32,90	12,20	Желтый
	„ „ С	12,35	4,65	„
	Прессованные дрожжи	38,20	12,95	Светложелтый
	Контроль (без дрожжей и бактерий)	42,45	14,10	„

деление количества клейковины, отмытой из теста, приготовленного с прибавлением бактерий групп А, В и С. Для сопоставления действия на клейковину бактерий и прессованных дрожжей отмывали также клейковину из контрольного теста (мука + вода) и из теста, приготовленного с прибавлением прессованных дрожжей.

Приготовление теста и отмывание из него клейковины проводили при следующих условиях: к 10 г пшеничной муки прибавляли 6 мл воды, в которой предварительно хорошо размешивали 0,1 г бактерий или прессованных дрожжей и замешивали тесто. Температура теста после замеса была 30°. Затем тесто помещали в термостат на 3 часа при температуре 30°, отмывали из него клейковину водопроводной водой той же температуры. Процентное содержание клейковины вычисляли на сырой и абсолютно сухой вес. Полученные данные приведены в табл. 2.

Обсуждение результатов

Из данных, приведенных в табл. 1, видно, что прибавление молочнокислых бактерий теста групп А, В и С к водным суспензиям пшеничной муки способствовало увеличению накопления водорастворимых азотистых веществ муки по сравнению с контролем (мука + вода).

В опытах с бактериями группы С было отмечено бóльшее образование водорастворимых азотистых веществ, чем с прибавлением бактерий групп А и В.

Полученные данные свидетельствуют о том, что все указанные бактерии производят протеолиз муки, причем бактерии группы С обладают наиболее мощным протеолитическим комплексом. Из данных, приведенных в четвертой серии опытов табл. 1 с прокипяченными бактериями группы С, видно, что бактерии этой группы, повидимому, не содержат активаторов протеолитических ферментов, так как содержание водорастворимых азотистых веществ в этом случае соответствует содержанию их в контроле (мука + вода).

Наблюдающееся некоторое колебание в содержании водорастворимых азотистых веществ между сериями опытов, возможно, следует отнести к колебаниям химического состава среды (пивное сусло), на котором культивировались бактерии.

При рассмотрении данных табл. 2, касающихся изменения клейковины, видно, что содержание сырой и абсолютно сухой клейковины, отмытой из теста, приготовленного с прибавлением бактерий, меньше чем из теста с прибавлением дрожжей и контрольного (мука + вода).

В опыте с бактериями группы С содержание клейковины почти в четыре раза меньше, чем в контроле, что согласуется и с большим накоплением водорастворимых азотистых веществ муки.

Приведенные данные указывают на то, что молочнокислые бактерии группы С и В производят значительно бóльшую дезагрегацию клейковины, чем дрожжи.

Клейковина, отмытая из теста с прибавлением молочнокислых бактерий, имела желтый или темножелтый цвет, что, возможно, связано с содержанием в культурах бактерий активной тирозиназы. Это подтверждается также опытами, поставленными ранее автором по приготовлению ржаного хлеба с чистыми культурами молочнокислых бактерий (наблюдается потемнение мякиша хлеба).

На основании приведенных данных мы считаем, что при изучении вопросов протеолиза муки и теста необходимо учитывать протеолитические ферменты молочнокислых бактерий. Кроме того, большое теоретическое и практическое значение будет иметь изучение самого протеолитического комплекса этих бактерий.

Выводы

1. Молочнокислые бактерии группы А (Streptobacterium plantarum), В (Betabacterium) С (Thermobacterium) производят протеолиз пшеничной муки, способствуя накоплению водорастворимых азотистых веществ.

2. Содержание клейковины, отмытой из теста, приготовленного с прибавлением бактерий группы В и С, значительно меньше, чем из теста с прибавлением прессованных дрожжей и контрольного (мука + вода).

3. Молочнокислые бактерии группы С обладают наиболее мощным протеолитическим комплексом.

4. При изучении протеолиза муки и теста необходимо учитывать протеолитические ферменты молочнокислых бактерий.

Центральная лаборатория
I-го Ленинградского государственного
треста хлебопекарной промышленности

Получено 15.IX.1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Ауэрман Л. Я. Протеолиз пшеничной муки, изучаемый физическими методами. Биохимия хлебопечения. Сб. I, стр. 109. 1938.
2. Проскуряков Н. И. Естественные активаторы протеолиза в пшеничной муке. Биохимия хлебопечения. Сб. I, стр. 61, 1938.
3. Проскуряков Н. И. и Бундель А. А. Протеолиз пшеничной муки. Биохимия хлебопечения. Сб. I, стр. 75. 1938.
4. Селибер Г., Бычковская А. и Вольфсон И. Приготовление заквасок из чистых культур бактерий и дрожжей. Труды Всесоюзного института сельскохозяйственной микробиологии, V, стр. 276, 1933.
5. Тульчинский М. Н., Шмидт З. И. и Скалон И. С. Бактерии кислого теста. Труды Центральной лаборатории 1-го Ленинградского государственного треста хлебопекарной промышленности. Выпуск III, стр. 1, 1938.
6. Тульчинский М. Н. О зависимости между вкусовой, активной, общей кислотностью и химическим ее составом в ржаном хлебе. Биохимия. 3, № 5, 640, 1938.
7. Тульчинский М. Н. О содержании и методике определения ацетилметилкарбинола в хлебе. Вопросы питания. Том IX, № 5, 60, 1940.

БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КУЛЬТУР ФУЗАРИУМ (СЕКЦИЯ SPOROTRICHIELLA)

РАЗЛОЖЕНИЕ ЖИРА

Ю. И. Рубинштейн

Чрезвычайная изменчивость морфологических признаков рода Fusarium установлена работами отечественных исследователей и зарубежными авторами. Отчасти именно эта большая вариабильность затрудняет определение секций и особенно видов Fusarium. Специалист в области морфологии и систематики Fusarium Райлло [12] на основании многолетних исследований считает, что лишь некоторые морфологические признаки (форма верхней клетки конидий, изогнутость, преобладающее число перегородок) могут служить для диагностики вида, подвида и разновидностей. Не отрицая значения морфологической характеристики культуры, следует отметить, что на данном уровне наших знаний в области микробиологии, биохимии и физиологии растений вряд ли можно ограничиваться только морфологическими и культуральными признаками при изучении такого обширного и богатого видами рода грибов, каким является род Fusarium. Необходимо отметить, что в роде Fusarium имеется немало видов, которые являются вредителями сельского хозяйства, поражая злаки, овощи и технические культуры. За последние годы трудами советских исследователей была установлена токсичность некоторых Fusarium для животных [2, 10, 13]. Экспериментами на кошках и обезьянах было доказано, что Fusarium sporotrichioides при выращивании на злаках образует токсические вещества, угнетающие функции гемопоэза [14, 15]. Употребление в пищу перезимовавшего под снегом зерна, пораженного Fusarium sporotrichioides, а также продуктов его переработки вызывает у человека заболевание — алиментарно-токсическую алейкию (септическую ангину). В связи с установлением этиологической роли Fusarium sporotrichioides в возникновении алиментарно-токсической алейкии изучение этих грибов привлекает наше внимание. Очевидной стала необходимость методики, позволяющей определять токсичность культур Fusarium для выделения их из имеющегося в природе большого разнообразия видов.

Мы попытались разработать такую методику, используя для посевов культур Fusarium, выделенных нами из различных злаков в течение 1943—1948 гг. В своей работе мы исходили из того, что специфичная токсичность культур связана, а возможно, и обусловливается их биохимической активностью.

В литературе последних лет имеются работы, посвященные изучению биохимических свойств грибов, в частности и Fusarium. В работах, направленных на установление связи токсичности Fusarium с их фитопатологическими свойствами, главное внимание исследователей обращается на их протеолитические свойства [7, 17, 20]. В работе Пидопличко и Билай [11] описывается ферментативный аппарат ряда грибов, поражающих хлебные злаки, в том числе и некоторых видов Fusarium. Однако авторы не ставили перед собой задачи связать токсичность культур с определенными ферментами. Купревич [6] описывает методику качественного определения ферментов и дает перечень их для некоторых

сапрофитных и паразитных грибов; род Fusarium им специально не изучается.

В разрезе поставленных задач, т. е. изучения токсичных культур Fusarium, способных вызывать пищевые микотоксикозы человека[1], а также методики определения токсичности на основании их биохимических свойств нам не удалось найти какой-либо литературы. Целью настоящей работы является изучение способности некоторых культур Fusarium разлагать жир и сопоставление этих свойств с их токсичностью, определяемой методом кожной пробы на кролике.

Для испытания нам служили культуры Fusarium, выделенные главным образом из перезимовавших под снегом ядовитых злаков, вызывающих алиментарно-токсическую алейкию. Как было указано выше, Fusarium sporotrichioides при росте на зерне в условиях зимовки на поле, а также в экспериментальных условиях, обладает способностью вырабатывать токсические вещества, угнетающие функцию костного мозга. Химическая природа этих токсических веществ точно не установлена; подавляющее большинство исследователей относит их к жировым веществам [1, 4, 8]. Наши опыты на кроликах и кошках (работа проводилась совместно с Кретовичем; Институт биохимии АН СССР) показали, что после полного извлечения жира из токсичного зерна, экспериментально зараженного Fusarium sporotrichioides, оставшаяся обезжиренная мука не обладает больше токсическими свойствами. Можно предполагать, что Fusarium sporotrichioides, развиваясь на зерне, разлагает жир, образуя какие-то пока еще не установленные токсические вещества.

Следует отметить, что определение токсичности перезимовавших злаков сводится к извлечению из зерна жира с помощью эфира и испытанию на коже кролика жировой фракции. Токсичным является зерно, жировая фракция которого дает положительную реакцию (образование некроза на коже при нанесении капли извлеченного жира). Следовательно, токсичность как в биологических опытах на кошках, так и кожная реакция на кроликах связаны с жировой фракцией зерна. Поэтому мы начали изучение культур с установления их способности разлагать жир. Мы предполагали, что токсичные культуры Fusarium должны обладать липолитической активностью и, развиваясь на зерне, разлагать жир, образуя токсические вещества. Культуры Fusarium, не способные разлагать жир, при росте на зерне в аналогичных условиях не должны были, по нашему предположению, образовывать токсические вещества в зерне.

Мы испытали 46 штаммов Fusarium, выделенных из перезимовавших злаков в продолжение 1943—1947 гг. из некоторых областей СССР, пораженных и не пораженных алиментарно-токсической алейкией, а также 22 культуры, выделенные из неперезимовавшего зерна в 1948 г. Всего было испытано 68 штаммов из секций Sporotrichiella и Roseum; у части культур ввиду отсутствия спороношения секция не была установлена; определение видов не закончено. Все изучаемые штаммы параллельно испытывались методом кожной пробы на кроликах, а часть из них была, кроме того, испытана на мышах.

Не останавливаясь на описании метода определения токсичности культур, следует лишь отметить, что в основу его положена та же кожная реакция на кролике с жировой фракцией, которая применяется для установления токсичности перезимовавших под снегом злаков. Этот метод оправдал себя в процессе изучения этиологии алиментарно-токсической алейкии и позволяет устанавливать токсичность культур. Однако сложность и длительность всего определения (заражение зерна, выра-

[1] Пищевыми микотоксикозами мы называем отравления, вызываемые употреблением в пищу продуктов, обычно зерновых, в которых при развитии определенных грибов образуются токсические вещества.

щивание, получение экстракта и т. д. отнимает около 5 недель), необходимость пользоваться животными,— все это значительно затрудняет определение, а при большом количестве культур делает его часто неприемлемым.

Исходя из вышеизложенных предпосылок о связи токсичности с жировой фракцией, мы основали наш метод на жирорасщепляющей способности Fusarium.

Способность бактерий, актиномицетов и грибов усваивать жиры хорошо известна [3, 5, 16]. Обширна литература, касающаяся культивирования на средах с жиром и установления жира как источника углеродистого питания для микроорганизмов. Известна способность ряда микроорганизмов разлагать и усваивать жиры. Проводились качественные и количественные определения способности микробов, выделяемых из различных источников (почвы, масла, жира, кишечника и др.), разлагать жир. Существование работ, касающихся определения расщепления жира в связи с токсичностью грибов, нам не известно. Некоторые микроорганизмы способны усваивать жир без предварительного расщепления, между тем как другие обладают ясно выраженной способностью разлагать жир.

В микробиологической практике известно большое количество методов определения расщепления жира микроорганизмами. Мы использовали синтетическую среду с сернокислой нильской синью (Nielblausulfat), примененную при изучении разрушения жира и воска лучистыми грибками [18]. В этой среде единственным источником углерода является жир. Как мы и предполагали, те культуры Fusarium, которые способны разлагать и усваивать жир, дают интенсивный пышный рост на этой среде; культуры, не усваивающие жира при отсутствии в среде другого источника углерода, дают слабый, едва заметный рост, а некоторые штаммы совсем не обнаруживают роста. Для установления факта расщепления жира к питательной среде прибавляется в качестве индикатора краска — сернокислая нильская синь (Nielblausulfat), которая в кислой среде дает синее окрашивание, а в слабощелочной — красное. В присутствии нейтральных жиров среда при добавлении краски становится розовой, а в присутствии жирных кислот — синей. Метод испытания культур состоит из посева на среду и выращивании при 18—20° в продолжение 5—7 дней.

Мы пользуемся:

а) синтетической средой следующего состава: $NaNO_3$ — 2 г, KCl — 0,5 г, $MgSO_4$ — 0,5 г, K_2HPO_4 — 1 г, $FeSO_4$ — 0,001 г воды дестиллированной — 1 л; добавляется 2% агара, разливается по 100 мл, стерилизуется при 120° 15 минут;

б) подсолнечным маслом по 5—6 мл в пробирках; стерилизуется при 110° 20 минут.

в) 1% водным раствором краски.

Перед посевом к 100 мл расплавленной, горячей среды (а) добавляется 2—3 мл стерильного подсолнечного масла (б); все это сильно встряхивается в продолжение 8—10 минут, после чего добавляется 0,2—0,3 мл краски (в) и вновь взбалтывается до появления розового оттенка. Разливается в чашки Петри по 10—12 мл. Застывшая среда имеет розоватый цвет; на поверхности ее небольшие застывшие капельки жира.

Производится посев при помощи платиновой петли на 3—4 участка чашки Петри; для каждого штамма мы пользовались отдельными чашками. Выращивание производится при 18—20°; наблюдение ведется в продолжение 7—8 дней. Токсичные по кожной пробе культуры Fusarium (все они относятся к секции Sporotrichiella) уже через три дня после посева образуют довольно крупные колонии с хорошо выраженным, обычно белым мицелием, со стороны агара колонии голубого цвета; в те-

чение следующих дней рост увеличивается, и к 7—8-му дню колонии обычно настолько разрастаются, что они сливаются и вся чашка покрывается мицелием беловатогрязного цвета; агар приобретает цвет давленой малины с молоком (грязноваторозовый) с голубыми мелкими пятнышками, иногда в виде точек. В дальнейшем рост становится настолько интенсивным, что мицелий поднимается по краям чашки и вползает даже на крышку чашки Петри. Культуры сохраняют на этой среде свою характерную форму макро- и микроконидий в продолжение длительного времени.

Культуры, не токсичные по кожной пробе (из испытанных нами штаммов это были секция Roseum и неспороносящие), на 3-й день либо совсем не обнаруживают роста, либо на месте посева образуется небольшая колония, среда не изменяет своего первоначального цвета. В дальнейшем, к 7—8-му дню роста, колонии либо остаются небольшими, либо несколько вырастают, но никогда не образуют сплошного, слитого роста на чашке. Колонии остаются изолированными, мицелий белого цвета, агар либо не изменяет своего первоначального цвета, либо становится голубоватым, но никогда не имеет такого вида, как описано выше у токсичных культур; конидии сохраняют на этой среде свои характерные формы. Уже на 5—7-й день после посева, по характеру роста можно дифференцировать токсичные и нетоксичные культуры.

Из испытанных 68 штаммов путем параллельного определения токсичности по кожной пробе и методом посева на среду с жиром мы получили следующие результаты: из 28 кожнотоксичных штаммов хороший рост на среде получился у 26 культур, а из общего числа культур (68) нетоксичных штаммов было 40, между тем слабый рост оказался у 42. Следовательно, в 92,8% у токсичных культур наблюдался характерный рост на среде с жиром. Особенно следует отметить рост 14 резко токсичных штаммов, которые давали на среде с жиром однотипный, интенсивный рост. Полученные данные свидетельствуют о способности токсичных культур усваивать жир. Чтобы выяснить интенсивность жирорасщеплений была использована жидкая среда того же состава (которая применялась в твердых средах) и титрованием определялась кислотность после выращивания культур. Этим способом мы могли установить, насколько глубоко идет разложение жира с образованием свободных жирных кислот.

Метод, которым мы пользовались, состоял в следующем: в колбочки со 150 мл жидкой среды указанного выше состава, но без краски добавлялось перед посевом 3 мл стерильного подсолнечного масла. Производился посев, и выращивание культуры велось в продолжение 20 дней при 18—20°. На 5—6-й день отмечалось образование пленки, причем у токсичных культур она бывала более мощная, чем у нетоксичных; цвет пленки зависел от штамма. Через 20 дней колбы с культурами прогревались при 100° в продолжение одного часа. Контролем служила такая непрогретая среда с жиром, но без культуры. После прогревания производилось определение кислотности. Жир из колбочек отделялся при помощи делительной воронки, растворялся в смеси спирта с эфиром и титровался спиртовым раствором 0,1 *N* KOH с фенолфталеином до розового окрашивания. Количество щелочи, пошедшей при титровании, указывает на кислотность, которая связана с интенсивностью расщепления жира, внесенного в среду.

Так как опыты проводились в совершенно аналогичных условиях, то можно считать, что разница в количестве образовавшихся жирных кислот зависит исключительно от жирорасщепляющей способности отдельных штаммов. Из таблицы видно, что все резко токсичные культуры образуют значительное количество жирных кислот (штамм 806, 1,999, 909, 1000, 1002, 927); все эти культуры относятся к секции Sporotrichiella и в опытах на животных (белые мыши, морские свинки, кошки)

показывают высокую токсичность. В случаях мало токсичных или сомнительных культур при титровании потребляется значительно меньше щелочи. Среди нетоксичных культур имеются такие, у которых при росте идет на титрование щелочи столько же, сколько для контроля, а также и такие, где потребление щелочи несколько выше, чем у контроля. Однако следует отметить, что в последнем случае столь высокие цифры, как в случаях титрования токсичных культур, не получаются.

Можно, следовательно, полагать, что токсичные культуры обладают значительно более высокой жирорасщепляющей способностью. На очереди стоит вопрос изучения наличия липазы в токсичных культурах и ее выделения.

В перезимовавшем под снегом токсичном зерне, пораженном Fusarium sporotrichioides образование ядовитых жировых веществ, повидимому, в какой-то степени связано с липолитическим воздействием Fusarium sporotrichioides. Из литературных данных известно, что при хранении грибы утрачивают способность разлагать жир; как показывают наши наблюдения, культуры Fusarium sporotrichioides в лабораторных условиях могут терять токсичность. Возможно, что эти явления связаны между собой (таблица).

Таблица 1

Сравнительные данные токсичности и жирорасщепления культур Fusarium

№ штамма	Токсичность по кожной пробе	Рост на твердой среде с жиром и Nielblausulfat	Количество 0,1 *N* КОН через 20 дней роста в мл	№ штамма	Токсичность по кожной пробе	Рост на твердой среде с жиром и Nielblausulfat	Количество 0,1 *N* КОН через 20 дней роста в мл
806	+++	+++	17	922	—	—	1,2
817	—	—	1	915	—	+	4,3
814	+ (—)	+ (—)	6,2	917	—	—	1
826	—	—	5,3	909	+++	+++	21,5
803	+	+	6,3	1000	+++	+++	19,7
802	+ (—)	+	4,8	903	+ (—)	+ (—)	3,2
16	—	—	3,4	989	+ (—)	—	6,7
1А	++	+++	18,8	936	—	—	1,4
1Б	++	++	18,8	994	—	—	4
930	—	—	1,5	938	—	—	4,2
999	+++	+++	17,8	953	—	+ (—)	4,3
905	+ (—)	+	4,4	934	—	—	7
991	+ (—)	+	8,0	911	—	—	4,3
967	++	++	7	1002	+++	+++	15
906	++	++	6,2	912	—	—	4
974	+ (—)	+ (—)	6,5	969	—	+ (—)	4,5
1	+++	+++	23,5	927	+++	+++	10,8
926	—	—	2,9	979	—	—	7,2
976	++	++	5,6				

Примечание. — роста нет; + (—) неясный рост; + есть рост; ++ умеренный рост; +++ сильный рост. В среде без посева (контроль) потребляется 0,9—1,6 мл щелочи.

Выводы

1. Наблюдается прямая корреляция между токсичностью и способностью жирорасщепления культур Fusarium.

2. Посевом на агаровую среду с жиром и сернокислой нильской синью (Nielblausulfat) можно дифференцировать токсичные культуры Fusarium, которые дают иной рост, чем нетоксичные.

3. В жидкой среде с жиром токсичные культуры Fusarium обладают

способностью расщеплять жир с образованием значительного количества жирных кислот, что не имеет места у нетоксичных культур Fusarium.

4. Испытанные токсичные культуры Fusarium, обладающие резкой жирорасщепляющей способностью, относятся к секции Sporotrichiella.

Институт питания
Академии медицинских наук
Москва

Получено 26.XII.1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Губарев Е. М. и Губарева Н. А. Химическая природа и некоторые химические свойства ядов, обусловливающие септическую ангину. Биохимия, **10**, 199, 1945.
2. Иоффе А. З. и Миронов С. Г. Микофлора нормальных и перезимовавших под снегом злаков. Алиментарно-токсическая алейкия. Тр. Чкаловского обл. ин-та эпидем. и микробиол. II, 28. 1947.
3. Красильников Н. А. Лучистые грибки и родственные им организмы. Москва, 1938.
4. Кретович В. Л. и Бундель А. А. Исследование масла из перезимовавшего в поле токсического проса. Биохимия, **10**, 216, 1945.
5. Кублановская Г. М. Разложение подсолнечного масла микроорганизмами при затрудненном доступе воздуха. Микробиология, VIII, 706, 1939.
6. Купревич В. Ф. Физиология больного растения. Москва, 1947.
7. Медведева С. Токсины Fusarium buch. и Fusarium graminearum. ДАН СССР. XV, 495, 1937.
8. Миронов С. и Фок Р. О токсичности перезимовавшего в поле проса. Материалы по «септической ангине». Тр. 1-го Харьк. мед. ин-та и Чкал. обл. ин-та эпидем. и микробиол. Чкалов, 47, 1944.
9. Наумов Н. А. «Пьяный хлеб» (Наблюдения над несколькими видами рода Fusarium). Тр. Бюро по микологии и фитопатологии. Петроград, № 12, 92, 1916.
10. Пидопличко Н. М. и Билай В. И. Токсичные грибы на зерне хлебных злаков. Киев, 1946.
11. Пидопличко Н. М. и Билай В. И. К характеристике ферментативного аппарата токсических грибов на зерне хлебных злаков. Доповіді Академії Наук УРСР. Відділ біологічних наук. № 1—2, 1946 (на украинском языке).
12. Райлло А. И. Диагностическая оценка морфологических и культуральных признаков у видов рода Fusarium. Тр. по защите растений, II серия, вып. 7, Изд. ВАСХНИЛ, 1935.
13. Рубинштейн Ю. И. Микрофлора перезимовавших под снегом злаков. Тр. Ин-та питания АМН, Москва, стр. 29, 1948.
14. Рубинштейн Ю. И. и Лясс Л. С. Об этиологии алиментарно-токсической алейкии. Гигиена и санитария, № 7, 33, 1948.
15. Саркисов А. Х. Перезимовавшие под снегом зерновые культуры. Москва, 1948.
16. Селибер Г. Л. Образование и разложение жиров микроорганизмами. Монография. Ленинград, 1926.
17. Сухенко Ф. Т. и Белецкий К. И. Биохимические изменения в зернах пшеницы при поражении «пьяным грибком». Биохимия, **11**, 219, 1946.
18. Таусон Т. А. Разрушение жира и воска лучистыми грибками. Микробиология, XV, 73, 1946.
19. Тупеневич С. М. Фузариоз пшеницы и результаты его изучения. Тр. Воронежской станции защиты растений. Воронеж, вып. 1 (XII), 80, 1936.
20. Федотова Т. И. Биохимический метод определения степени паразитизма рода фузариум. Защита растений, № 1, 115, 1935.

ВЛИЯНИЕ ВИРУСА ЖЕЛТУХИ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА

Е. Т. Дикасова

Огромные потери гусениц от желтухи на выкормках вызвали необходимость в исследовании степени распространения вируса желтухи в грене, находящейся в промышленных условиях [1, 2, 3], и выяснении значимости зараженности грены на урожай коконов.

Ранее проведенными исследованиями установлено, что инкубация грены в провоцирующих желтуху условиях приводит к накоплению вирусных включений полиэдров у вышедших из нее гусениц [4], причем встречаются полиэдры в исследуемых препаратах в виде скоплений. При скоплении полиэдров в отдельных участках препарата вероятность нахождения их под микроскопом не велика.

Кроме этого, скопления полиэдров, будучи более крупными образованиями, легко смываются водой и красками при изготовлении препаратов. Последующими исследованиями установлено, что введение даже одной подкормки, а вместе с этим удлинение жизни гусениц приводит к получению полиэдров в препаратах в рассеянном виде. Воспользовавшись возможностью накопления полиэдров в гусеницах вскоре после выхода их из яиц, мы произвели исследование грены, полученной с различных гренажных заводов. Подробности проведенных исследований состояли в следующем: производилось отвешивание по 1 г грены от исследуемых образцов. Все навески обеззараживались путем выдерживания их в растворе 2% едкого натра в течение одной минуты с последующим 30-минутным выдерживанием в 96% спирте. Обеззараженные навески грены переносились в стерильные чашки Петри и помещались в термостат при температуре 29—30° и влажности окружающего воздуха 90%. На вторые сутки после дружного оживления вышедшим гусеницам вносился обеззараженный с поверхности лист. Лист обеззараживался путем тщательного смывания обеих поверхностей листовых пластинок 2% раствором едкого натра. Щелочь устранялась ополаскиванием стерильной водой, а стекающие капли воды удалялись стерильной фильтровальной бумагой. После этого вся поверхность листа обильно смачивалась 96% спиртом и фламбировалась на пламени спиртовой горелки. Производилось это с осторожностью, чтобы не делать значительных ожогов на листьях. После всех этих манипуляций лист темнел, но все же поедался гусеницами.

На вторые сутки после кормления из каждого образца грены использовалось по 50 штук гусениц для изготовления бактериологических препаратов. Препараты окрашивались контрастным способом (1% бриллиантовая зелень 1—2 секунды с последующим выдерживанием в 1% пикриновой кислоте 5—6 минут [8, 10]).

Данные микроанализа грены представлены в табл. 1.

При сопоставлении цифрового материала, полученного при исследовании грены отдельных гренажных заводов, наблюдается взаимосвязь между степенью распространения вируса желтухи в грене и климатическими условиями в местах приготовления ее. Так, из пяти указанных в табл. 1 гренажных заводов наибольшее число зараженных желтухой

Таблица 1

Распространение вируса желтухи в грене, находящейся на гренажных заводах

Место приготовления грены	Число исследованных партий грены	Число обследованных яиц	Средний % зараженности грены желтухой
Ошский гренажный завод Киргизской ССР	33	1 700	3,58
Ферганский гренажный завод Узбекской ССР	49	2 450	6,29
Кокандский гренажный завод Узбекской ССР	27	1 350	16,36
Самаркандский гренажный завод Узбекской ССР	29	1 450	6,07
Бухарский гренажный завод Узбекской ССР	20	1 000	10,33

яиц обнаружено в грене, полученной от Кокандского гренажного завода, где наблюдается наиболее высокая температура в сочетании с наиболее повышенной влажностью. Наименьшее число зараженных яиц оказалось в грене Ошского гренажного завода, где наблюдается более пониженная температура и влажность. Сравнительно невысокий средний процент зараженности грены, приготовленной Ферганским гренажным заводом, следует отнести за счет того, что с этого завода была получена третья часть образцов грены высшей категории (суперэлитные), которые оказались менее инфицированными желтухой. Что касается эпизоотии на выкормках, то из всех обозначенных мест в Кокандской группе районов наблюдаются наиболее частые случаи массовой гибели гусениц от желтухи.

Представляет интерес проверка практической значимости зараженности грены в получении урожая коконов. Проведение этих исследований производилось путем сравнительной выкормки гусениц, вышедших из различно зараженных желтухой образцов грены, полученных с Ошского и Кокандского гренажных заводов. Для испытания каждого образца было взято по 500 штук яиц. До начала инкубации каждый образец взвешивался с целью установления среднего веса яиц, а затем велись наблюдения за процессом оживления грены. В результате исследований установлено, что более интенсивно зараженные образцы имеют меньший вес, растянутый период оживления и пониженное число жизнеспособных яиц [5]. Каждая из партий гусениц, вышедших из различных образцов грены, размещалась на полках этажерок, имеющих совершенно равную площадь, и при одинаковой вентиляции воздуха. Все исследуемые партии гусениц содержались при температуре 23—24°. В процессе выкормки велось тщательное наблюдение за развитием и ростом гусениц, а кроме этого, производилось микроскопирование и учет всех появляющихся трупов по партиям. Данные этих исследований представлены в табл. 2.

Из полученного цифрового материала видно, что по мере увеличения числа зараженных желтухой яиц наблюдается уменьшение числа гусениц, оставшихся в живых к концу личиночного периода. Ежедневное микроскопирование и учет всех появляющихся трупов в партиях гусениц позволили установить неодинаковую динамику гибели гусениц, вышедших из различно зараженных образцов грены. Так, в промышленной партии № 1018, содержащей 3% зараженных яиц, наблюдается систематическая гибель гусениц, начиная с первых дней их жизни, усилившаяся к концу пятого возраста перед завивкой.

Таблица 2

Жизнеспособность гусениц, вышедших из различно зараженных желтухой образцов грены Багдадской породы, приготовления 1947 г.

Наименование образцов грены, использованной для выкормки	% зараженности яиц в образце	Число гусениц, вышедших из 500 яиц	Гибель гусениц										Число оставшихся в живых гусениц на начало завивки
			1-й возраст		2-й возраст		3-й возраст		4-й возраст		5-й возраст		
			от желтухи	от других заболеваний	от желтухи	от других заболеваний	от желтухи	от других заболеваний	от желтухи	от других заболеваний	от желтухи	от других заболеваний	
Суперэлитная партия № 03 Ошского гренажного завода . . .	0	492	0	2	0	0	0	0	0	3	0	15	472
Промышленная партия № 1018 Ошского гренажного завода . . .	3	495	2	1	3	4	3	3	3	8	14	46	418
Промышленная партия № 1020 Ошского гренажного завода . . .	6	492	57	5	16	3	15	7	5	5	54	13	312
Промышленная партия № 4 Кокандского гренажного завода . . .	9	487	116	5	71	2	0	2	0	4	27	0	260
Промышленная партия № 56 Кокандского гренажного завода . . .	15	483	5	3	0	4	0	2	23	28	104	71	233

В промышленной партии № 1020, содержащей 6% зараженных яиц, отмечена значительная гибель гусениц в первые два дня после выхода из яиц. В третьем и четвертом возрастах наблюдалось некоторое уменьшение смертности гусениц. В пятом возрасте число гусениц, погибших от желтухи, снова увеличилось. В промышленной партии № 4 (9% зараженных яиц) наблюдалась массовая гибель гусениц в первые дни после выхода их из яиц, которая почти полностью прекратилась в более старших возрастах за исключением пятого. Наконец, представляет интерес несколько подробнее остановиться на промышленной партии № 56 (15% зараженных яиц). Дело в том, что в этой партии сейчас же после первой линьки отмечается значительное число отставших в развитии гусениц. Отмеченная разновозрастность становится еще более рельефной в третьем возрасте. К концу же пятого возраста почти все отставшие гусеницы погибли, а незначительная оставшаяся часть их погибла в коконах.

Все отставшие в развитии гусеницы имели пониженный аппетит и неохотно залезали на лист, медленно росли и их завивка была необыкновенно растянутой.

Заслуживает особого рассмотрения вопрос о разновозрастности гусениц, наблюдаемой нами ранее в партиях гусениц, вышедших из интенсивно зараженных желтухой образцов грены.

В литературе по болезням шелкопряда имеются [6, 7, 9] указания на то, что при заболевании гусениц пебриной и чахлостью вследствие истощения и связанным с этим замедлением роста гусениц наблюдается разновозрастность выкормки. Но никем еще не указывалось, чтобы при заражении гусениц желтухой наблюдались аналогичные внешние проявления болезни. Повторяющиеся случаи возникновения разновозрастности гусениц, вышедших из зараженных образцов грены, и отсутствие в литературе указаний о возможности таких внешних проявлений желтухи у гусениц вызвали необходимость в проведении специальных исследова-

ний грены и вышедших из нее отставших в развитии гусениц на присутствие в них возбудителя — Nosema bombysis и бактерий. При исследовании на зараженность пебриной для микроскопирования использовались нативные и окрашенные по Гимза препараты, приготовленные из грены и гусениц. Исследование на присутствие бактерий производилось путем посева на сахарный бульон внутреннего содержимого грены, кишечников и гемолимфы отставших гусениц. Высеянный материал выдерживался в течение трех дней при температуре 32° и после этого исследовался под микроскопом на присутствие в нем бактерий. Исследованиями установлена полная стерильность грены и полученных от нее недоразвитых гусениц, за исключением присутствия единичных полиэдров.

Аналогичное проявление желтухи у гусениц с образованием единичных полиэдров нами неоднократно наблюдалось на выкормках, близлежащих к городу Коканду Узбекской ССР.

Veneroso [11] описывает спонтанное возникновение желтухи у гусениц этого возраста с наличием в их телах редко встречающихся полиэдров.

Нам остается неизвестной причина различной динамики гибели гусениц, вышедших из исследуемых образцов грены. Последующие исследования процесса инфицирования грены и условий проникновения в нее вируса, нужно полагать, осветят эти, пока еще никем не тронутые вопросы.

От всех кормившихся партий гусениц были собраны коконы, которые подвергались взвешиванию с целью определения урожайности их. Данные этих исследований представлены в табл. 3.

Таблица 3

Урожайность коконов от партий гусениц, вышедших из различно зараженных желтухой образцов грены

Наименование образцов грены	% зараженных яиц в образце	Общий вес полученных коконов в г	Вес коконного брака в г	Вес нормальных коконов в г
Суперэлитная партия № 03 Ошского гренажного завода	0	1 173	43	1 130
Промышленная партия № 1018 Ошского гренажного завода	3	1 030	98	932
Промышленная партия № 1020 Ошского гренажного завода	6	757	112	665
Промышленная партия № 4 Кокандского гренажного завода	9	625	69	556
Промышленная партия № 56 Кокандского гренажного завода	15	469	124	345

Из приведенных материалов видно, что с повышением процента зараженных яиц в образце грены наблюдается значительное уменьшение коконов и увеличение коконного брака.

Таким образом, наблюдаемое нами понижение жизнеспособности шелкопряда, вышедшего из пораженной желтухой грены, вскрывает ущерб в шелководстве, вызванный использованием для выкормок зараженной вирусом желтухи грены.

Выводы

1. Исследованием грены, полученной с гренажных заводов, установлено широкое распространение в ней вируса желтухи.

2. Сравнительная выкормка гусениц, вышедших из различно зараженных образцов грены, показала, что исход выкормок в значительной мере определяется степенью заражения грены желтухой.

3. Проведенные исследования позволили наметить два способа профилактической борьбы с желтухой — путем получения свободного от вируса желтухи материала браковкой зараженных образцов грены в процессе микроанализа и созданием соответствующих экологических условий в период кормления гусениц, предназначенных для получения грены.

Среднеазиатский научно-исследовательский институт шелководства (САНИИШ)
Ташкент

Получено 4.VIII.1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Дикасова Е. Т. К вопросу о зараженности грены тутового шелкопряда. Труды совещания комиссии шелководства ВАСХНИЛ. Огиз — Сельхозгиз, М., стр. 46, 1947.
2. Дикасова Е. Т. Метод электрофореза в исследовании грены на присутствие в ней вируса желтухи. Микробиология, XVIII, 67, 1949.
3. Дикасова Е. Т. Испытание эффективности борьбы с желтухой тутового шелкопряда путем поверхностного обеззараживания грены. АН УзССР № 5, 1949.
4. Дикасова Е. Т. Исследование грены, полученной от зараженных желтухой бабочек. Микробиология, XVIII, 356, 1949.
5. Дикасова Е. Т. Опыт микроанализа промышленной грены тутового шелкопряда на присутствие в ней вируса желтухи. АН УзССР, № 7, 1949.
6. Михайлов Е. Н. Болезни тутового шелкопряда. Госиздат УзССР, Ташкент, стр. 69, 1945.
7. Михайлов Е. Н. Червокормление. Госиздат УзССР, Ташкент, стр. 118, 1948.
8. Похил А. И. и Тараненко Н. Н. К вопросу о передаче инфекции желтухи у тутового шелкопряда через инфекционное яйцо. Анналы Мечниковского института, стр. 341, Харьков, 1936.
9. Поярков Э. Ф. Курс практического шелководства. Изд. Среднеаз. ин-та шелководства, Ташкент, стр. 175, 1930.
10. Шевцова О. И. Окраска полиэдренных тел при диагностике желтухи у тутового и дубового шелкопрядов. Шелк, Гизлегпром, № 7, 1939.
11. Veneroso A. La malattia della poliedria nel Bombyx mori L., provocata da foglia intossi cata da fluoruri. Bollettino Ascoli Piceno, XIII, 1, 1934.

КЛУБЕНЬКОВЫЕ БАКТЕРИИ

(1945—1949)

(Обзор)

К. И. Рудаков

Клубеньковые бактерии в последнее время стали наиболее интересными бактериями с сельскохозяйственной точки зрения. С одной стороны, их практическое применение является мощным средством повышения урожаев бобовых, а также урожаев травосмесей, вводимых в СССР в соответствии с решениями партии и правительства о травопольных севооборотах. Одновременно применение клубеньковых бактерий способствует скорейшему решению азотной проблемы в сельском хозяйстве, обогащению сельскохозяйственных растений и почвы связанным азотом. По подсчетам Д. Н. Прянишникова (1945), усвоение азота одним гектаром посева хорошего клевера за счет деятельности клубеньковых бактерий определяется в 150—160 кг азота, 1 га люпина — 160 кг, 1 га люцерны — 300 кг, 1 га вики (при посеве в смеси с овсом) — 50—80 кг.

В то же время клубеньковые бактерии являются тем объектом, работа над которым во всей широте позволит подойти к решению проблемы, выдвинутой Т. Д. Лысенко (1946) о корневом питании растений через продукты жизнедеятельности микробов: питание бобовых растений азотной пищей осуществляется непосредственно через вещества, синтезированные при участии клубеньковых бактерий за счет азота воздуха.

Разобравшись в азотном питании бобовых, нетрудно перейти и к роли продуктов жизнедеятельности микробов в корневом питании растений вообще. Наконец, уже по одному тому, что клубеньковые бактерии в природных условиях живут в двух состояниях — в почве и в корнях бобового растения — легко решать, применительно к микроорганизмам, вопрос о единстве условий среды и функций организма, ставить вопросы о направленном изменении свойств клубеньковых бактерий путем воспитания и ряд других общебиологических вопросов, выдвинутых августовской сессией ВАСХНИЛ (О положении в биологической науке, 1948).

Клубеньковые бактерии, впервые открытые Ворониным в 1867 г., уже давно стали предметом пристального внимания русских ученых, а в особенности после Великой Октябрьской социалистической революции.

Усвоение элементарного азота клубеньковыми бактериями

Одним из основных вопросов, давно поставленных учеными на разрешение, явился вопрос о механизме усвоения элементарного азота и последующих трансформаций последнего в сочетании «клубеньковые бактерии — бобовые растения».

В предвоенный период особое значение как первому продукту, образующемуся при усвоении элементарного азота азотобактером наряду с аммиаком, придавалось гидроксиламину (Blom, 1931). Эта точка зрения была развита Виртаненом и для симбиотической азотофиксации (Virtanen, 1939; Virtanen и Laine, 1939). В послевоенный период Виртанен с сотрудниками, развивая свою мысль, высказанную еще в 1939 г., о стимулировании азотофиксации изолированными клубеньками при добавле-

нии оксалуксусной кислоты как акцептора гидроксиламина, в 1943 г. (Virtanen, Arhimo, Sudman и Jämes) говорит уже о малом значении оксалуксусной кислоты, если в растении присутствует и кетоглютаровая кислота и возможный ее предшественник — лимонная кислота. В 1946 г. Virtanen, Linkola, Hokala и Rautanen сообщают, что продукты выделения клубеньков, помимо ранее названных аспарагина, α-аланина и оксиянтарной кислоты, содержат также глютаминовую кислоту. Однако еще в 1943 г. Burris, Eppling, Wahlin и Wilson, а затем в 1947 г. Wilson и Burris показывают, что добавления щавелево-уксусной кислоты, α-кетоглютаровой и лимонной кислот на фиксацию азота изолированными клубеньками влияния не оказывает. Wilson и Burris (1947), сопоставляя приведенные выше данные Виртанена и других иследователей с данными Виноградского (1936) и другими, высказывают соображение, что в равной мере можно говорить и об аммиаке и о гидроксиламине как о первых продуктах ассимиляции N_2 системой «клубеньковые бактерии — бобовые растения».

Значительное внимание в послевоенные годы было уделено роли в фиксации азота красного пигмента клубеньков бобовых — гемопротеина, подобного гемоглобину (Virtanen, 1945; Keilin и Wang, 1945). Virtanen (1945), а также Virtanen и Laine (1945) высказывают предположение, что гемоглобин вместе с сопутствующим метгемоглобином образуют в клубеньках окислительно-восстановительную систему, основанную на изменении валентности железа. Эта система и способствует восстановлению N_2 в NH_2OH по обратимой реакции Litsche (1912)

$$HbO_2\,[Fe^{++}] + 2NH_2OH \rightleftarrows Nb\,[Fe^{+++}] + N_2$$

Следует отметить, что реакция Litsche не соответствует современным представлениям о реакциях, за счет которых из гемоглобина образуются оксигемоглобин и метгемоглобин:

$$HbO_2\,[Fe^{++}] \rightleftarrows O_2 + Hb\,[Fe^{++}] \rightleftarrows MetHb\,[Fe^{+++}]$$

Вместе с тем из обратимости реакции Litsche ясно следует, что при восстановлении N_2 до NH_2OH освобождается молекулярный кислород, за счет которого метгемоглобин превращается в оксигемоглобин. Virtanen и Laine (1945), для придания большей «рациональности» своей гипотезе, заменяют, однако, оксигемоглобин гемоглобином, давая следующую схему:

$$N_2 + MetHb\,[Fe^{+++}] \rightleftarrows NH_2OH + Hb\,[Fe^{++}]$$

щавелево-уксусная кислота

l-аспарагиновая кислота ← оксим

Эта схема удивительна тем, что два более окисленных соединения (N_2 и $MetHb[Fe^{+++}]$) дают два менее окисленных соединения (NH_2OH и $Hb[Fe^{++}]$). Можно также отметить, что соображения Virtanen, Laine и Lincola (1945) относительно того, что превращение метгемоглобина и гемоглобина в клубеньках зависит от содержания щавелево-уксусной кислоты, не подтверждаются исследовательскими данными (Wilson и Burris, 1947).

К тому же, опыты, проведенные при помощи микрореспиратора (Little и Burris, 1947), показали, что добавление пигмента к культурам клубеньковых бактерий стимулирует дыхание при малом давлении O_2 (0,01 атм).

Так как внутри клубенька имеется лишь незначительное давление кислорода (Allisson, Ludwig, Hoover и Minor, 1940), то можно говорить лишь о функциях пигмента, аналогичных гемоглобину у животных (Wilson и Burris, 1947).

Не меньшее внимание привлекает к себе вопрос о способности клубеньковых бактерий самостоятельно усваивать азот. В 1945 г. Virtanen и Laine сообщают о наблюдавшейся ими фиксации азота чистой культурой Rhisobium leguminosarum при добавлении экстракта из клубеньков соевых бобов, содержащих пигмент. Фиксация резко повышалась при введении щавелево-уксусной кислоты. Однако уже в 1946 г. Virtanen устанавливает, что при пользовании очищенными препаратами пигмента фиксации азота не наблюдается. Wilson и Burris испытали в 1947 г. свыше 20 препаратов пигмента из клубеньков гороха и сои при добавлении щавелево-уксусной кислоты, α-кетоглютаровой и лимонной кислот, а также глюкозы, но не могли наблюдать фиксации азота чистыми культурами клубеньковых бактерий.

Вообще нужно сказать, что уже в предвоенный период американцы пытались вообще прекратить обсуждение этого вопроса, утверждая, что ни клубеньковые бактерии, ни бобовые растения отдельно элементарного азота не усваивают; к азотоусвоению способна лишь система: «бобовые растения — клубеньковые бактерии» (ср. Wilson, 1940). В 1943 г. американцами сделана и опубликована работа для окончательного утверждения этого, показывающая, что «меченый» азот (N^{15}) клубеньковыми бактериями не усваивается (Burris, Eppling, Wahlin и Wilson, 1943).

Выводы американцев казались настолько убедительными, что, например, Работнова в своем обзоре по азотоусвоению у микроорганизмов в 1946 г. пишет: «...теперь с несомненностью установлено, что клубеньковые бактерии и бобовые растения порознь азот не усваивают...» В СССР, однако, эта позиция не может считаться общепризнанной.

Еще в 1936 г. Вернер и Ковалев доказывали возможность усвоения азота чистыми культурами клубеньковых бактерий в присутствии биоса и в отсутствие связанного азота. Хотя данные Вернера и Ковалева и не были подтверждены исследованиями Работновой (1936), однако уже в первые послевоенные годы вновь появляются работы, показывающие ошибочность позиции, занятой американскими учеными. Федоров в 1948 г. публикует данные, показывающие, что при наличии в среде ограниченных доз связанного азота (2,5 мг на 100 мл) клубеньковые бактерии могут усваивать 2—3 мг азота на 1 г питательных веществ среды.

Способность клубеньковых бактерий самостоятельно усваивать элементарный азот отмечается также Красильниковым (1945) и др.

Вирулентность и активность клубеньковых бактерий

Вопросом, также давно привлекающим внимание микробиологов, является их вирулентность, т. е. способность проникать в корни бобового. По этому вопросу Красильниковым (1945) развивается новая позиция. Он показывает, что вирулентность клубеньковых бактерий — признак неустойчивый. Воздействием продуктов жизнедеятельности одних клубеньковых бактерий (фильтраты через свечи Беркефельда) на другие можно прививать последним свойства первых, например, обрабатывая клубеньковые бактерии вики или гороха фильтратами бактерий клевера или люцерны, можно привить им вирулентность в отношении клевера и люцерны. Больше того, обрабатывая теми же фильтратами некоторые бактерии из рода Pseudomonas, можно превратить их в клубеньковые бактерии, способные образовать клубеньки у клевера и люцерны.

К сожалению, публикации Красильникова по этому вопросу прекратились в 1945 г., между тем весьма вероятна мысль, что в опытах Красильникова происходило не возникновение новых бактериальных видов, но приобретение так называемых «наведенных» свойств, аналогичных свойству парааглютинации.

В отношении вирулентности клубеньковых бактерий особый интерес представляют исследования Израильского (1950) — (частное сообщение), который показал, что в корневую систему бобовых проникают лишь фильтрующиеся формы этих бактерий.

За последние годы в связи с проблемой активности клубеньковых бактерий большое внимание исследователей привлекла техника выделения чистых культур: было высказано предположение, что их активность колеблется в зависимости от способа выделения.

Такую позицию в отношении вирулентности и активности клубеньковых бактерий занимает Гельцер (1948). Она считает, что чистые культуры клубеньковых бактерий, изолированные из клубеньков общепринятыми приемами, т. е. из клубеньков, обработанных сулемой и спиртом, менее активны, чем бактерии, выделенные из клубеньков, не подвергавшихся стерилизации. На основании этого она предлагает выделять клубеньковые бактерии, не прибегая к стерилизации клубеньков. К сожалению, в ее работах нет данных о вирулентности и активности выделенных по ее способу культур. Указывается лишь, что «устанавливается способность бактерий» (выделенных без стерилизации клубенька) «проникать в корни соответствующих бобовых растений и образовывать клубеньки».

Ламповщиков (1947) еще до опубликования упомянутой статьи Гельцер произвел проверку активности и вирулентности клубеньковых бактерий, выделенных из клубеньков, подвергавшихся и не подвергавшихся стерилизации сулемой и спиртом. Им установлено, что наиболее активные и вирулентные культуры получаются при обработке клубеньков растворами сулемы и спирта (с последующей отмывкой стерильной водой). Отметим также, что способ Гельцер подвергнут резкой критике также со стороны Мишустина (1949).

Исходя из предпосылки, что клубеньковые бактерии, служащие для изготовления нитрагина, менее активны, нежели заключенные в гроздевидных клубеньках розового цвета с высоким содержанием азота и взятые с хорошо развитого растения-хозяина, Гельцер (1945, 1948) предлагает «новые пути повышения активности клубеньковых бактерий». Такими путями, по взглядам Гельцер, являются инокуляция семян растертыми клубеньками бобовых, выращенных в специальных «питомниках». Развитие этого положения дается в статье Гельцер и Монжалей (1948), где описываются эксперименты по повышению урожая люпинов при применении клубеньков из «питомников». Техника закладки «питомников» и ухода за ними даются в особой статье Гельцер (1948).

Мишустин (1949) полагает, что против принципа бактериальных питомников, предложенных Гельцер, возражений быть не может, однако он считает ее опыты по сравнению эффективности растертых клубеньков с заводским нитрагином недоказательными и отмечает крупные преимущества нитрагина.

Как известно, вопрос о возможности определять активность клубеньковых бактерий лабораторным путем не нов. Американцы не оставляют попыток найти такой способ (Kleczkowska и Thornton, 1944). Они сопоставили активность 29 штаммов гороха и 160 штаммов клевера с их агглютинационной способностью. Зависимости между титром агглютинации и активностью установить не удалось.

На основе своих работ с клубеньковыми бактериями Гельцер и Евтеева (1948) также предлагают лабораторный метод определения их активности. В основе метода лежит, с одной стороны, подбор клубеньков по характеру их развития (обилие на корнях, размеры, гроздевидность, наличие красного пигмента — «гемоглобина» и т. д.), а с другой — на определении процента азота в клубеньках. Способ, предлагаемый Гельцер и Евтеевой, подвергнут Мишустиным (1949) резкой критике в части зависимости энергии фиксации азота от содержания гемоглобина (розо-

вая окраска) в клубеньках, а также зависимости между процентом азота в клубеньках и активностью клубеньковых бактерий.

Ламповщиков (1948) провел интересные исследования по вопросу о влиянии свойств почвы на вирулентность клубеньковых бактерий. Наиболее интенсивно клубеньки образуются на почвах с pH > 6,0, и насыщенностью основаниями свыше 90%. С падением значения pH и насыщенности основаниями количество клубеньков на корнях клевера падает.

Отметим далее работы Красильникова (1945) и Красильникова с Кореняко (1944), показавшие, что некоторые почвенные бактерии (Pseudomonas aurantiaca, Pseudom. fluorescens, Azotobacter) усиливают и вирулентность и активность клубеньковых бактерий. Почвенные бактерии из рода Achromobacter, а также некоторые штаммы Pseudomonas fluorescens, ослабляют их активность и вирулентность. Наконец, отмечены штаммы Pseudomonas fluorescens, не оказывающие влияния на клубеньковые бактерии.

К неожиданному и странному выводу по тому же вопросу приходит Конокотина (1948). Не получив определенных результатов по выживаемости клубеньковых бактерий в смеси со споровыми формами, она на основании одного полевого опыта приходит к выводу, что Bac. mesentericus, Bac. subtilis, Bac. mesentericus niger, прибавленные к нитрагину, и даже нитрагин, приготовленный на «недостаточно стерилизованной почве», «...угнетают размножение клубеньковых бактерий, но не оказывают существенного влияния на урожай зараженных ими растений».

Несколько иные наблюдения сделаны Доросинским (1949) в отношении влияния актиномицетов на клубеньковые бактерии. Он показал, что из числа исследованных актиномицетов Act. violaceus на искусственных средах улучшает рост клубеньковых бактерий, не изменяя их физиологических свойств. Act. globisporus оказывает угнетающее действие на клубеньковые бактерии, причем на искусственных средах более резкое, чем в почве. Аналогичные выводы получены на искусственных средах и в отношении ряда грибов: Gimnoaseus incinatis усиливает рост клубеньковых бактерий; Mucor racemosus, Penicillium silvaticum, Mucor humicallus, Aspergillus niger оказывали на клубеньковые бактерии угнетающее действие. Остальные испытанные виды оказывали или слабоугнетающее действие, или же не влияли вовсе на клубеньковые бактерии. При совместном культивировании в почве заметного влияния грибов на клубеньковые бактерии не отмечено.

Довольно много исследований касаются влияния других экологических факторов на вирулентность и активность клубеньковых бактерий.

Красильников (1944), а затем Кореняко и Красильников (1948) провели серию исследований по изучению влияния сельскохозяйственного растения на вирулентность и активность клубеньковых бактерий. Показано, что все бобовые, хлопчатник, рейграс, тимофеевка стимулируют развитие и накопление клубеньковых бактерий; кукуруза же, лен и пшеница снижают активность клубеньковых клевера и др.

Финкельштейн (1949) показывает угнетающее действие на клубеньковые бактерии картофеля. Одновременно он отмечает резко положительный эффект извести. Паносян (1946) в качестве предварительного сообщения публикует материалы, показывающие, что клубеньковые бактерии люцерны, под влиянием типа почвы, полива, влажности почвы — резко меняют не только свои морфологические признаки, но также активность и вирулентность. Аналогичные результаты получены Меграбян (1946) в отношении французской чечевицы. Швецова (1944), продолжая свои исследования над бактериофагом, доказала, что последний можно изолировать только из почвы под культурой бобовых; в бобовых же растениях фаг отсутствует.

Варианты клубеньковых бактерий, образовавшиеся под влиянием фага, обладают пониженной вирулентностью и активностью.

Бернард (1948) провел сравнение эффективности гладких и складчатых рас вносимых в почку клубеньковых бактерий с находящимися в тех почвах, где производится посев бобовых («дополнительная генокуляция»). На основании проведенных вегетационных опытов он подтверждает теоретически установившиеся взгляды, т. е., что для преимущественного проникновения в корневые системы бобовых вносимые расы клубеньковых бактерий должны обладать бóльшей вирулентностью, а для повышения азотоусвоения — бóльшей активностью по сравнению с находящимися в почве.

Доросинский и Ламповщиков (1948) изучали действие на клубеньковые бактерии в стерильной почве (нитрагин) низких температур. Они пришли к парадоксальному выводу, что клубеньковые бактерии гороха в результате 13-дневного пребывания при температуре от —1 до —21° резко увеличиваются в числе (с 3 300 млн. до 22 100 млн на 1 г почвы). Отметим прежде всего, что сообщаемые цифры, повидимому, преувеличены в 1000 раз (можно говорить, например, о 3 300 тыс., а не о 3 300 млн). Размножение же бактерий при хранении при температуре от —1° до —21° вряд ли происходило. Содержание бактерий в 22 100 млн. (?), определенное в одной из банок после 13-дневного хранения, не является результатом их размножения, но, вероятно, было равно этой же величине и в начале опыта. Дело в том, что количество бактерий в 1 г почвы после хранения в определенных температурных условиях сравнивалось не с исходным количеством бактерий 1 г почвы из той же банки, а со средней исходной величиной, определенной по 16 банкам. Прочие данные Доросинского указывают на снижение численности клубеньковых бактерий в результате замораживания и последующего оттаивания, однако на эффективности нитрагина это почти не отражается (вегетационные и полевые опыты).

Поскольку под вирулентностью мы понимаем способность клубеньковых бактерий образовывать на корнях бобовых клубеньки, к этому же разделу можно отнести и работы, касающиеся влияния редких металлов и микроэлементов на эту функцию. Дробков (1945) провел исследование о значении радия для образования клубеньков. Он показал, что радий, при проведении опытов с чистыми солями, лишенными радиоактивных элементов, совершенно необходим для образования клубеньков. При его отсутствии клубеньки не образуются. Однако вопрос о практическом значении радия остается открытым, так как содержание Ra в почве обычно в 3000 раз превышает потребность в нем растений (Школьник, 1950).

В монографии Каталымова (1948) мы находим некоторые общие данные о значении бора.

По вопросу о значении молибдена при фиксации азота имеются новые данные Jensen и Betti (1943) и Jensen (1944), которые показывают, что молибден значительно усиливает усвоение азота симбиотическими системами люпина и белого клевера с клубеньковыми бактериями, почти не оказывая в то же время влияния на усвоение теми же растениями N_2 при отсутствии симбиоза с клубеньковыми бактериями.

Ряд исследований был посвящен вопросу о значении гидрогеназы при фиксации азота системой «бобовые растения — клубеньковые бактерии». Как известно, роль гидрогеназы азотобактера весьма связана с фиксацией элементарного азота. Однако ни в чистых культурах клубеньковых бактерий, ни в клубеньках гидрогеназа обнаружена не была (Wilson, Burris, Coffe, 1943).

Базырина, Конокотина и Ковалева (1949) рассматривают вопрос о влиянии азотного питания бобового растения на морфологические признаки клубеньковых бактерий и образование ими клубеньков. Они устанавливают, что избыточное питание растений азотом, изменяя морфологические признаки клубеньковых бактерий, угнетают развитие клубень-

ков. Повышение дозы фосфора и калия снижает вредное действие азота.

Лопатина (1949) провела изучение вопроса, поднятого в свое время Виртаненом и полностью опровергнутого Wilson совместно с другими работниками Висконсинской станции (США), о питании небобовых растений корневыми выделениями бобовых. На основе проведенных опытов она приходит к выводу, что практически заметного действия люпина и клевера на урожай овса констатировать нельзя. Опыты, поставленные ею (1947) с затемнением бобовых растений для усиления выделения азотистых соединений корнями бобовых, также не показали положительного влияния на развитие овса.

Морфологические и культуральные свойства клубеньковых бактерий

В этом разделе одним из существенных является вопрос о систематике клубеньковых бактерий. За рассматриваемый период никто, как известно, не делал попыток изменить положение бактерий в системе микроорганизмов.

Однако Красильников (1945) становится на ту точку зрения, что дифференциация клубеньковых по видам растений недостаточна. «Несостоятельность этого принципа,— говорит он,— состоит в том, что у многих культур нет строгой специфичности. Один и тот же штамм или вид может образовать клубеньки у многих видов растений и, наоборот, многие виды бактерий образуют клубеньки у одного и того же растения». Предложений об изменении принципов дифференцировки Красильников, однако, не делает.

Основанием для такого взгляда могли явиться наряду с другими фактами новые исследования Kleczkowsky и Thornton (1944), а также Kleczkowsky, Nutman и Bond (1944), которые показали, что некоторые штаммы клевера и гороха могут не только перекрестно агглютинироваться, но и перекрестно образовывать клубеньки и на клевере и на горохе.

Своеобразным подтверждением отсутствия строгой специфичности у клубеньковых растений могут служить также наблюдения Паносяна (1946), который, исследуя клубеньки лоха (Eleagnus angustifolia), изолировал из них клубеньковые бактерии.

Меграбян (1946) проведено изучение морфолого-физических свойств клубеньков бактерий французской чечевицы. Установлено, что по морфологическим признакам бактерии французской чечевицы весьма близки (по Меграбян, не отличаются) к известным клубеньковым бактериям. В физиологическом отношении отмечается различная способность штаммов к редукции нитратов.

Большое практическое значение имеет работа Бернард (1948), который показал, что растительные экстракты являются хорошими средами для клубеньковых бактерий. Им установлено, что при концентрации экстрактов ниже 1% размножаются мелкие коккообразные формы клубеньковых бактерий. При высших концентрациях — удлиненные палочки и бактероиды. Экстракты, при прибавлении к синтетическим средам, резко стимулируют развитие клубеньковых, в частности медленно растущих — сои и люпина.

Отметим, наконец, стоящую несколько особняком работу Gaw (1945), который пытался проследить за циклом развития клубеньковых бактерий вики при выращивании их на искусственных питательных средах и в почве. Он приходит к заключению, что, хотя и наблюдаются отклонения в характере роста, определенного цикла развития для клубеньковых бактерий вики установить невозможно.

Популярная литература

Несмотря на всю практическую важность клубеньковых бактерий, популярная литература, опубликованная в послевоенные годы, весьма незначительна.

В популярной статье Рудакова (1948) сообщены общие сведения о клубеньковых бактериях, процессе азотоусвоения и о значении клубеньковых бактерий как средства повышения урожая бобовых.

В брошюре Доросинского (1949) также даны лишь общие сведения о клубеньковых.

Более подробный материал помещен в сборнике «Применение бактериальных препаратов в земледелии». В сборнике сообщается много новых данных о клубеньковых бактериях по опубликованным и неопубликованным данным. Отсутствие литературного указателя значительно снижает ценность сборника и упомянутых материалов.

Всесоюзный институт сельскохозяйственной микробиологии
Московское отделение

Получено 15.VI.1950

ЛИТЕРАТУРА

1. Базырина Е. К., Конокотина А. Г., Ковалева В. Н. Развитие клубеньков в связи с азотным питанием бобового растения. Труды Вс. ин-та с.-х. микробиологии за 1941—1945 гг., стр. 113, 1949.
2. Бернард В. В. Свойства клубеньковых бактерий и действие нитрагина, Сб. «Пути повышения активности клубеньковых бактерий». Сельхозгиз, стр. 66, 1948.
3. Бернард В. В. Растительные экстракты, как среда для размножения клубеньковых бактерий, стр. 56. Сб. «Пути повышения активности клубеньковых бактерий». Сельхозгиз, 1948.
4. Вернер А. и Ковалев А. К. К вопросу об азотфиксирующей способности. ДАН СССР, IV, 9, 1936.
5. Воронин М. (Woronin M.) Observations sur certains excroissances que présentent les racines de l'aune en du lupin des jardins. Ann. Sci. Nat, Botan., ser. 5, 7, 73, 1867.
6. Гельцер Ф. Ю. Микроорганизмы в сельском хозяйстве. Сельхозгиз, 1945.
7. Гельцер Ф. Ю. К вопросу об интенсификации роста многолетних трав и их действие на почву. Доклады Вс. ак. с.-х. наук, вып. 3, 1945.
8. Гельцер Ф. Ю. Новые пути повышения эффективности клубеньковых бактерий, стр. 27—34. Сб. «Пути повышения активности клубеньковых бактерий», Сельхозгиз, 1948.
9. Гельцер Ф. Ю. К методике выделения чистых культур клубеньковых бактерий. Сб. «Пути повышения активности клубеньковых бактерий», стр. 101, Сельхозгиз, 1948.
10. Гельцер Ф. Ю. и Евтеева А. В. Лабораторный метод определения активности клубеньковых бактерий. Сб. «Пути повышения активности клубеньковых бактерий», стр. 89. Сельхозгиз, 1948.
11. Гельцер Ф. Ю. Новый способ получения активных клубеньковых бактерий. Сб. «Пути повышения активности клубеньковых бактерий», стр. 42. Сельхозгиз, 1948.
12. Гельцер Ф. Ю., Монжалей Н. Д. Повышение фиксации азота клубеньковыми бактериями. Сб. «Пути повышения активности клубеньковых бактерий», стр. 36. Сельхозгиз, 1948.
13. Доросинский Л. М. Влияние некоторых почвенных грибов и актиномицетов на клубеньковые бактерии. Труды Вс. ин-та с.-х. микробиологии за 1941—1945 гг., стр. 98. Сельхозгиз, 1949.
14. Доросинский Л. М., Бактериальные удобрения. Сельхозгиз, 1949.
15. Доросинский Л. М., Ламповщиков П. К. Влияние низких температур на эффективность нитрагина. Сб. «Пути повышения активности клубеньковых бактерий», стр. 95. Сельхозгиз, 1948.
16. Дробков А. А. Значение радиоактивных элементов в развитии клубеньковых бактерий и усвоение ими молекулярного азота воздуха. ДАН СССР, 49 (№ 3), 227, 1945.
17. Каталымов М. В. Значение бора в земледелии СССР. Сельхозгиз, 1948.
18. Конокотина А. Ю. Влияние загрязнителей на качество нитрагина. Сб. «Пути повышения активности клубеньковых бактерий», стр. 108. Сельхозгиз, 1948.
19. Конокотина А. Г. Созревание и урожай бобовых растений в связи с их инокуляцией. Сб. «Пути повышения активности клубеньковых бактерий», стр. 83, Сельхозгиз, 1948.

20. Кореняко А. И., Красильников Н. А. Влияние растительного покрова на развитие и активность клубеньковых бактерий в почве. Сб. «Пути повышения активности клубеньковых бактерий», стр. 5, Сельхозгиз, 1948.
21. Красильников Н. А. Влияние растительного покрова на микробный состав в почве. Микробиология, XIII, 187, 1944.
22. Красильников Н. А. Прививка новых свойств вирулентности клубеньковым и некоторым неклубеньковым бактериям. Микробиология, XIV, 230, 1945.
23. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. Изд-во АН СССР, Москва, 1949.
24. Красильников Н. А. Микробиологические основы бактериальных удобрений. Из-во АН СССР, Москва, 1945.
25. Красильников Н. А. и Кореняко А. И. Влияние почвенной микрофлоры на вирулентность и активность клубеньковых бактерий. Микробиология, XIII, 1944.
26. Красильников Н. А., Кореняко А. И. Влияние клубеньковых бактерий на азотфиксацию клевера в условиях стерильных культур. Микробиология, XV, 279, 1946.
27. Ламповщиков П. К. Влияние различных способов выделения клубеньковых бактерий на их вирулентность и активность. Микробиология, XVI, 293, 1947.
28. Ламповщиков П. К. Естественная инокуляция клевера на различных почвах. Доклады ВАСХНИЛ, 256—261, 1948.
29. Лопатина Г. В. К вопросу питания небобовых растений азотистыми корневыми выделениями бобовых при их совместном культивировании. Сб. «Пути повышения эффективности бобовых», 74. Сельхозгиз, 1948.
30. Лопатина Г. В. Фазы развития бобовых и эффективность инокуляции. Диссертация, 1947. Гос. пед. ин-т им. Герцена, Ленинград.
31. Лысенко Т. Д. Сельскохозяйственная наука в борьбе за выполнение Сталинской программы. «Известия», № 56 (6 марта) 1946.
32. Лысенко Т. Д. О положении в биологической науке. Стенограф. отчет сессии ВАСХНИЛ, Сельхозгиз, 1948.
33. Меграбян А. А. Морфологические и физиологические свойства клубеньковых бактерий французской чечевицы. Микробиологический сборник АН Арм. ССР, 187, 1946.
34. Меграбян А. А. Вирулентность и активность клубеньковых бактерий французской чечевицы. Микробиологический сборник АН Арм.ССР, 205, 1946.
35. Мишустин Е. Н. «Пути повышения активности клубеньковых бактерий» (Рецензия). Почвоведение, 7, 429, 1949.
36. Паносян А. К. Влияние экологических факторов на некоторые биологические особенности клубеньковых бактерий люцерны. Микробиологический сборник АН Арм.ССР, 147, 1946.
37. Паносян А. К. Микробиологическая характеристика солончаков Армянской ССР в связи с вопросом их освоения. АН Арм.ССР, 1947.
38. Применение бактериальных препаратов в земледелии. Сельхозгиз. 1949.
39. Прянишников Д. Н. Азот в жизни растений и в земледелии СССР. Из-во АН СССР, Москва, 1945.
40. Работнова И. Л. Новые данные по азотоусвоению у микроорганизмов. Успехи современной биологии, XXI, вып. 444, 1946.
41. Работнова И. Л. Способны ли Rhisobium к азотфиксации в чистой культуре? Микробиология, V, 217, 1936.
42. Рудаков К. И. Удобрения из воздуха. Молодой колхозник, № 6, 1948.
43. Финкельштейн М. Я. Пути повышения эффективности инокуляции клевера. Диссертация. Фонд Ин-та физиологии растений АН СССР, 1949.
44. Федоров М. В. Влияние органических веществ на образование клубеньков гороха в условиях монобактериальной водной культуры Сб. работ факультета агрохимии ТСХА, 1945.
45. Федоров М. В. Влияние азотобактера и клубеньковых бактерий на азотный баланс почвы при удобрении соломой и последующей культуре бобовых и злаков. Сб. статей факультета агрохимии ТСХА, 1946.
46. Федоров М. В. Биологическая фиксация азота атмосферы. Сельхозгиз. 1948.
47. Федоров М. В. Фиксация азота чистыми культурами Bact. radicicola. Сб. «Пути повышения активности клубеньковых бактерий», 17—26, Сельхозгиз, 1948.
48. Швецова О. И. Бактериофаг и клубеньковые бактерии. Микробиология, XIII, 107, 1944.
49. Школьник М. Я. Значение микроэлементов в жизни растения и в земледелии. Изд-во АН СССР, 1950.
50. Allison F. E., Ludwig C. A., Hoover S. R. a. Minor F. W. Biochemical nitrogen fixation studies. Botan. Gaz., **101**, 513, 1940.
51. Blom J. Ein Versuch der chemischen Vorgänge bei Assimilation des molecularen Stickstoffs durch Microorganismen zu erklären. Ctbl. Bakt., Abt. II, 84, 60, 1931.
52. Burris R. H. a. Wilson P. W. Biological nitrogen fixation. Ann. Rev. Biochem., **14**, 685, 1945.
53. Burris R. H., Eppling F. J., Wahlin H. B. a. Wilson P. W. Detection of nitrogen fixation with isotopic nitrogen. J. Biol. Chem., **148**, 349, 1943.

54. Burris B., Eppling F., Wahlin H. a. Wilson P. Studies of biolog. nitrogen fixation. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 7, 208, 1942/1943.
55. Gaw H. Z. Studies on the Life Cycle of Vetch Nodule Bacteria. Soil Sci., 60, 19, 1945.
56. Jensen H. L. a. Betty R. C. Nitrogen fixation in leguminous plants. Proc. Linnean Soc. NS Wales, 63, 1, 1943.
57. Jensen H. L. Nitrogen fixation in leguminous plants. Proc. Linnean Soc. NS Vales, 70, 203, 1944.
58. Keilin D. a. Wang Y. L. Haemoglobin in the root nodules of leguminous plants. Nature 155, 227, 1945.
59. Kleczkowska J. a. Thornton H. G. A serological study of root nodule bacteria from pea and clover inoculation groups. J. Bact. 48, 661, 1944.
60. Kleczkowska J., Nutman P. S. a. Bond G. Note on the ability of certain strains of Rhizobia from peas and clover to infect each others host planst. J. Bact., 48, 673, 1944.
61. Lietche E. Über die Einwirkung von Hydroxylamin auf den Blutfarbstoff. Z. physiol. Chem., 80, 412, 1912.
62. Little H. N. a. Burris R. H. Activity of the red pigment from leguminous root nodules. J. Am. Chem. Soc., 69, 253, 1947.
63. Virtanen A. I. Mechanism of symbiotic nitrogen fixation by leguminous plants. Third Comm — Intern. Soc. Soil. Sci. Trans. A, 4, 1939.
64. Virtanen A. I. a. Laine P. Investigation on the root nodule bacteria of leguminous plants. XXII. Biochem. J., 33, 412, 1939.
65. Virtanen A. I. Simbiotic nitrogen fixation. Nature, 155, 747, 1945.
66. Virtanen A. I., Arhimo A. A., Sudman J. a. Jämes. Vorkommen und Bedeutung der Oxalessig Säure in grünen Pflanzen. J. prakt. Chem., 162, 71, 1943.
67. Virtanen A. I. a. Laino T. Significations of haemoglobin — methaemoglobin in N-fixation by leguminous plants. Suomen Kemistilehti 18 B, 39, 1945.
68. Virtanen A. I., Laine T. a. Linkola H. The green pigment in the root nodules of leguminous plants. Suomen Kemistilehti, 18 B, 36, 1945.
69. Virtanen A. I. a. Laine T. N-fixation by free-living legume bacteria. Suomen Kemistilehti, 18 B, 1945.
70. Virtanen A. I., Linkola H., Hakala M. a. Rotanen N. Glutamic acid among the excretion products of leguminous root nodules. Suomen Kemistilehti, 19 B, 83—84, 1946.
71. Virtanen A. I. Some additional notes to the studies on haemoglobin. Suomen Kemistilehti, 19 B, 48—49, 1946.
72. Winogradsky S. u. Winogradsky Helene. Recherches sur les bactéries radicicoles des légumineuses. Ann. Inst. Pasteur, 56, 22, 1936.
73. Wilson P. W., Burris R. H. a. Coffee W. B. Hydrogenase and symbiotic nitrogen fixation. J. Biol. Chem., 147, 475, 1943.
74. Wilson P. W. a. Burris R. H. The mechanisms of biological nitrogen fixation. Bacteriological review, 11, 41, 1947.
75. Wilson P. W. The biochemistry of symbiotic nitrogen fixation. Univ. of Wis. Press. Madison, 142, 1940.
76. Wilson I. B. a. Wilson P. W. Action of inhibitors on hydrogenase in Azotobakter. J. Gen. Phys. 26, 277, 1943.

МАТЕРИАЛЫ ПО ИСТОРИИ ПОЧВЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

Очерк второй

ПЕРВЫЙ ПЕРИОД: ОТ РАБОТ КОСТЫЧЕВА ДО ИССЛЕДОВАНИЙ ВИНОГРАДСКОГО (1886—1891)

Д. М. Новогрудский

В истории микробиологии, как она излагается в учебниках и руководствах, можно встретить традиционные точки зрения, которые при ближайшем рассмотрении оказываются ни на чем не основанными. Существует, например, традиция считать С. Н. Виноградского зачинателем и основоположником почвенной микробиологии в России. До него почвенная микробиология будто бы не существовала, а с его работами она была создана. Эта точка зрения неправильна. Она не только умаляет роль русской науки, но в неправильном свете изображает корни и обстановку научного творчества С. Н. Виноградского. Последнее нельзя рассматривать как необъяснимое и случайное явление на фоне русской научной жизни 90-х гг. Его изумительные исследования не являются изолированными событиями в хронике успехов русского естествознания. Уже до работ Виноградского русская почвенная микробиология шла в первых рядах мировой науки. В начале 90-х годов ряд талантливых русских исследователей разрабатывали проблемы почвенной микробиологии и на этом фоне напряженной научной деятельности оформилось творчество Виноградского.

Цель настоящего очерка — восстановить важнейшие черты русской почвенно-микробиологической науки 80-х и начала 90-х годов, предшествовавшей первым исследованиям Виноградского или совпадающей с последними. Хронологически очерк охватывает незначительный отрезок времени, с 1886 по 1891 гг., т. е. от первой публикации микробиологических исследований П. А. Костычева (1886) до переезда С. Н. Виноградского в Петербург (1891) в качестве заведующего отдела общей микробиологии Института экспериментальной медицины. Мы стремились осветить в этом очерке научные заслуги ряда деятелей в области почвенной микробиологии, имена которых не должны быть забыты.

I. Программные вопросы почвенной микробиологии. VIII съезд русских естествоиспытателей и врачей

Одна из особенностей русских исследований конца 80-х и начала 90-х гг.— это широкая постановка теоретических проблем микробиологии и стремление связать почвенную микробиологию с почвоведением и агрономией. Эта идея особенно была подчеркнута в 1890 г. в двух докладах В. И. Ковалевского и Г. Г. Густавсона на VIII съезде естествоиспытателей и врачей в Петербурге. VIII съезд имел большое значение в истории русской науки. Председателем распорядительного комитета съезда был проф. А. Н. Бекетов, а секретарем проф. В. В. Докучаев. Число участников достигло 2224 делегатов. Съезд с особенной силой подчеркнул мировое значение русской науки. На общих заседаниях

съезда были заслушаны среди прочих доклады А. Столетова «Эфир и электричество», Н. Е. Жуковского, будущего создателя аэродинамики, «К теории летания», К. А. Тимирязева «Факторы органической эволюции». В речи при открытии съезда Бекетов [I] сказал: «Мы еще в малом

VIII СЪѢЗДЪ

РУССКИХЪ ЕСТЕСТВОИСПЫТАТЕЛЕЙ

и

ВРАЧЕЙ

ВЪ С.-ПЕТЕРБУРГѢ

отъ 28 декабря 1889 г до 7 января 1890 г.

Составъ съѣзда, отчеты Секретаря и Редактора.
Протоколы и рѣчи 3-хъ общихъ и 6 ти соединенныхъ собраній.
Протоколы и статьи секцій: математики и астрономіи, физики, химіи, минералогіи и геологіи, ботаники, зоологіи, физіологіи и анатоміи географіи и антропологіи, агрономіи, медицины и гигіены.

СЪ РИСУНКАМИ И ДВУМЯ ГИПСОМЕТРИЧЕСКИМИ КАРТАМИ ЕВРОПЕЙСКОЙ РОССІИ.

С.-ПЕТЕРБУРГЪ
Тип. В. Демакова, Новый пер., № 7
1890.

числе, по сравнению с теми, можно сказать, легионами ученых, которые действуют на западе: но это самое должно нас ободрять больше всего, ибо с малыми силами мы в большинстве отраслей уже стоим наравне с остальными странами Европы, а в иных случаях занимаем и передовые посты».

В. И. Ковалевский был крупным чиновником в царском правительстве и автором статей по сельскому хозяйству. Его доклад был прочитан 4 января 1890 г. на торжественном заседании Вольного экономического общества и членов VIII съезда естествоиспытателей и врачей. Характерно уже само название доклада [22] «Запросы современного сельского хозяйства к естествознанию». В нем систематически излагалась талантливая программа исследований, связанных с русским сельским хозяйством. Доклад был проникнут горячим призывом к русским ученым притти на помощь земледелию.

«Наше естествознание (говорил В. И. Ковалевский) по всем своим отраслям блещет крупными талантами. Но до сих пор оно чрезвычайно мало отдавало себя на служение родной нивы. А между тем сельское хозяйство — nodus vitalis нашего хозяйственного организма, источник нашей силы. Наша сельскохозяйственная природа и культура развертывается на богатом разнообразии почв, климатов и организмов. На широкой и обильной Руси найдется место для целой рати естествоиспытателей. Типы русского естества должны быть изучены прежде всего. Сельскохозяйственная природа России нередко являет собою совокупность типичных образований, из коих некоторые как бы построены согласно требованиям экспериментального метода: недостаток влаги в степях при обилии солнца, недостаток тепла на севере при слабом, но продолжительном световом озарении... разве это не естественные лаборатории, облегчающие изучение естества?»

Исключительные достоинства доклада В. И. Ковалевского и интерес его для истории науки объясняются тем, что он выражал не только мнение самого докладчика, а коллектива известных деятелей сельскохозяйственной науки, принявших участие в разработке поставленных в докладе вопросов. Доклад был результатом коллективного труда многих выдающихся русских ученых [1] (А. Ф. Баталин, В. В. Докучаев, Г. И. Танфильев, П. А. Костычев и др.) и постановка в нем основных вопросов почвенной микробиологии представляет интерес, как выражение мнений всей русской науки. Трудно не привести несколько выдержек из этого доклада, в котором впервые были очерчены программные задачи почвенной микробиологии.

«С точки зрения естественной философии (говорилось в докладе) не может не представлять огромного интереса то, что почва есть средоточие жизни и борьбы за существование микроскопических растительных организмов; что результаты возделывания высшего культурного растения предопределяются в большей или меньшей степени этими микроорганизмами, которые в свою очередь требуют культурных приемов, и что борьбою между бактериями окисляющими и бактериями раскисляющими,— исход которой, в конце концов, когда наука даст к тому средства, будет в руках человека,— определяется не только поспевание пашни для посева, но и направление круговорота связанного азота на земле».

Дальше в докладе весьма точно намечаются задачи почвенной микробиологии.

«Таким образом, для биологов и бактериологов развертывается обширное поприще морфологии и физиологии микроорганизмов и условий их существования. С точки зрения земледельческой науки, важнейшей стороной дела представляются вызываемые ими изменения в органических и неорганических веществах почвы в связи с питанием культурных растений.

...Если Гельригелевское учение о прививке микроорганизмов к почве получит дальнейшее развитие, то они сами могут сделаться предметом возделывания, которое представит оригинальный вид специальной культуры — для последующего посева на полях с целью обеспечить урожай высшего растения.

...Да будет позволено так определить желательное, в интересах растениеводства, направление естественно-исторических исследований в ближайшем будущем: оно должно сосредоточиться главнейше на трех предметах — азоте, почвенной бактерии и световом луче, ибо дальнейшее изучение их обещает дать результаты чрезвычайно плодотворные — и для науки, и для практики».

Таким образом, уже на грани 90-х гг. была развернута обширная и продуманная программа почвенномикробиологических исследований, связанных с земледелием и растениеводством.

[1] Об участии коллектива ученых в создании доклада В. И. Ковалевского мы узнаем из текста того же доклада, опубликованного в Трудах имп. Вольного экономического общества, № 1, 1890.

Большой интерес представляет также произнесенная на том же съезде речь Г. Г. Густавсона [13] «О микробиологических основаниях агрономии». Густавсон (1842—1908) был профессором Петровской сельскохозяйственной академии и автором классического сочинения «Двадцать лекций агрономической химии» (1889). Подобно Ковалевскому, Густавсон начинает свою речь с характеристики тех глубоких перемен, которые внесла почвенная микробиология в воззрения на почву.

«Лет 15 тому назад на почву смотрели, как на безжизненную, хотя и постоянно меняющуюся среду, заключающую минеральные и органические вещества, служащие для укоренения в ней растений и для доставления им пищи. И вот теперь оказывается, что эта безжизненная среда оживилась. Она является густо населенною. Правда, население ее принадлежит к низшим степеням организованного мира: оно не бросается в глаза, не блещет разнообразием форм и никакими яркими внешними признаками не дает знать о своем существовании. Но это невидное и неслышное население усердно работает на пользу земледелия.

Как недалеко то время, когда об этом невидном мире мы не имели никакого понятия. Время это все помнят. Мы воображали, что средств мертвой природы достаточно для объяснения всей роскоши растительности на земной поверхности. Развитие углекислоты в почвах мы объясняли непосредственным действием кислорода на органические остатки, образование нитратов — непосредственным окислением азотистых веществ почвы».

Речь Густавсона была направлена против «скептиков». В то время, на заре современной почвенной микробиологии, существовали две точки зрения на значение этой науки для земледелия. Оптимисты, к которым принадлежал и докладчик, считали, что как микробиология произвела переворот в медицине, так внедрение ее в агрономию вызовет и в последней глубокие изменения. Наоборот, скептики принимали, что почвенная микробиология не имеет большого значения для практики земледелия, так как неотложные требования жизни и неизбежные природные условия давно привели земледельца к тому обращению с почвой, которое в равной степени удовлетворяет и химической и биологической теории.

Вот как Густавсон изображает рассуждения скептиков:

«Какое дело хозяину, образуются ли в его почве углекислота и нитраты при посредстве низших организмов, или при прямом действии кислорода на органические остатки, когда и в том и другом случае меры, принимаемые им для регулирования образования их в почве, по существу дела, остаются одни и те же. И в том и в другом случае, например, усиленная аэрация почвы, достигаемая обработкой, должна повысить в ней окислительные процессы, а противоположные условия должны действовать в обратном направлении, что и замечается. Принимая во внимание подобные обстоятельства, невольно возникает вопрос, можно ли, зная, что действующим элементом в земледелии являются микроорганизмы, ожидать в будущем существенных изменений в этой области, или нет?»

В то время еще не существовало практических достижений почвенной микробиологии, и ответ Густавсона был таков:

«На это я ствечу, что жизнь может дать самые неожиданные результаты. Разве Пастер не доказал этого? Разве в его руках жизнь не явилась орудием, которым можно производить в разных направлениях огромные эффекты. Культурою данной бактерии, при изменяющихся условиях, достигается придание ей различных свойств, действующих на организмы, после прививки, в разных, часто противоположных направлениях, производя результаты, громадность которых и в количественном и в качественном отношениях может достигнуть поразительных примеров. Следовательно, если нам известно, что данные процессы происходят на жизненной подкладке, как например в почве, можно ожидать очень много от изучения жизни тех микробов, которые являются здесь действующим началом. В настоящее же время это изучение лишь только началось и вопрос о микроорганизмах в почве находится теперь на той же степени развития, на которой стоял вопрос о заразных болезнях в тот период исследований Пастера, когда им уже были выяснены причины заражений, но средств для борьбы с ними еще дано не было. Тогда также раздавались голоса, отрицавшие значение нового открытия. Говорили, не все ли равно, отчего происходят заразные болезни, если обращаться с ними и лечить их приходиться по прежнему».

Густавсон был совершенно прав, подчеркивая, что задачи почвенной микробиологии не могут заключаться только в том, чтобы объяснить происходящие в почве процессы, переводя их с языка прежних химиче-

ских представлен[ие] на новый микробиологический язык, но и в том, чтобы найти новые пути управления этими процессами. Правда, эти пути оказались сложнее, чем в медицине и чем думали первые адепты почвенной микробиологии. Но это стало ясно уже значительно позднее.

II. Систематизация почвенно-микробиологических знаний. Д. И. Ивановский

Через год после VIII съезда русских естествоиспытателей и врачей появилась замечательная работа Д. И. Ивановского (впоследствии прославившегося открытием фильтрующихся вирусов) «Из деятельности микроорганизмов в почве» [15]. Это был первый систематический свод существующих знаний по почвенной микробиологии, первый курс этой науки (не только в России, но и заграницей). Эпиграфом к нему были взяты следующие слова Фаминцына: «Не без основания может быть поставлен вопрос: не сведется ли в будущем успешная культура и богатые урожаи хлебных растений на приспособление почвы к роскошному развитию в ней микроскопических организмов?». Работа Ивановского была замечательна еще и тем, что содержала ряд оригинальных идей по различным вопросам почвенной микробиологии. Один список литературы обнимал более 100 названий. Материал в ней был распределен по следующим разделам: 1) количество микроорганизмов в почве и способы определения его; 2) разложение безазотистых веществ (клетчатки); серобактерии и железобактерии; 3) превращения азотистых веществ в почве; распад белковых тел, нитрификация, денитрификация и выделение газообразного азота; 4) регенерация белков в почве. Теория Костычева; 5) влияние внешних условий на деятельность микроорганизмов в почве.

Работа Ивановского была доложена 25 февраля 1891 г. на заседании почвенной комиссии Вольного экономического общества под председательством Докучаева.

Нет возможности подробно останавливаться в этом кратком очерке на труде Ивановского, но нельзя не отметить ряд изложенных в нем новых идей.

Прежде всего Д. Ивановский, как и другие авторы до него (Ковалевский, Густавсон), стремится провести резкую грань между старым химическим представлением о почве и новым — микробиологическим.

«Физико-химические деятели (кислород, влажность, теплота, свет), которым еще так недавно приписывалось исключительное влияние на химические метаморфозы почвы, в настоящее время все более и более отступают на второй план, их роль в большинстве случаев оказывается лишь посредствующей, они влияют на химические процессы почвы лишь постольку, поскольку от них зависит жизнь простейших организмов. Тот, кто в настоящее время хотел бы заняться исследованием химических превращений почвы, неминуемо должен сосредоточить свое внимание на изучение жизни и деятельности этих простейших живых существ. К тому же оказывается, что именно те процессы, от которых наиболее зависит плодородие почвы и которые поэтому предпочтительно перед другими привлекают наше внимание, и находятся в наибольшей зависимости от жизнедеятельности микроорганизмов. Высшие растения и эти простейшие существа оказываются в такой тесной взаимной связи, что без одних, можно сказать, немыслимы другие».

В разделе о разложении в почве клетчатки Ивановский анализирует работу Гоппе-Зейлера о метановом брожении целлюлозы, возражает против мнения этого автора о том, что возбудителем этого процесса является Bacillus amylobacter. Ивановский при этом указывает, что при идентификации бактерий невозможно ограничиваться сходством их под микроскопом и одинаковым отношением к красящим веществам. Он подчеркивает резкое различие продуктов брожения, вызываемого метановой бактерией и Bacillus amylobacter, и приходит к выводу, что метановое брожение вызывается особым микробом, отличным от Bacillus amylobacter. «Будущим исследователям,— писал Ивановский,— предстоит от-

крыть этот микроорганизм». Как известно, этот прогноз через несколько лет получил блестящее подтверждение в работах В. Л. Омелянского.

Замечательны высказывания Ивановского о бактериях, разлагающих белки. В начале 90-х гг. разложение белков до простых соединений трактовалось как единый процесс, обусловливаемый с начала до конца определенными видами бактерий. По мнению Ивановского, такой взгляд является ошибочным, так как трудно думать, чтобы длинный ряд химических превращений белковых тел мог быть вызван одним организмом. «Всего вероятнее потому думать,— писал он,— что и при разложении белковых тел принимают участие весьма различные микроорганизмы и только при этом разделении труда сложное органическое вещество может быть превращено в такие простые продукты, как углекислота, вода, аммиак. Исследования с чистыми культурами определенных бактерий приобретают поэтому особый интерес для разъяснения роли бактерий при разложении белковых тел и нельзя не пожалеть, что таких исследований до сих пор имеется немного». Это предвидение Ивановского также весьма скоро оправдалось дальнейшим развитием микробиологии.

Излагая вопрос об аммонификации, Ивановский критикует мнение Мюнца, который считал, что подобно организму, окисляющему аммиак в азотную кислоту, должен существовать определенный микроорганизм, отщепляющий аммиак из сложных азотистых соединений. В противоположность этому взгляду, Ивановский подчеркивает, что в этом отношении нет никакой необходимости признавать существование одного особого микроба, так как весьма многие бактерии способны разрушать сложные азотистые вещества с образованием аммиака.

В труде Ивановского был дан разбор теории П. А. Костычева о регенерации в почве белковых тел. Теорию Костычева Ивановский считает «остроумной и совершенно правильной в своем основании». Она разъясняет многие стороны вопроса, до сих пор остававшиеся темными: малое количество растворимых азотистых соединений в почве (аммиака и азотной кислоты), в сравнении с значительным общим содержанием азота, загадочное прочное состояние азота в почвенном перегное и возможность его накопления в нем. Но ошибочным, по мнению Ивановского, является в теории Костычева положение о том, что если органическое вещество содержит менее 5% азота, то при его разложении в почве весь азот перейдет в плазму грибов.

Исходя из данных Роллена, что регенерация 1,5 г азота грибом Aspergillus niger сопровождается сжиганием в процессе дыхания 100 г безазотистых веществ, Ивановский указывает, что в природных условиях это отношение будет значительно шире, вследствие чего при разложении в почвах растительных остатков часть содержащегося в них азота из-за недостатка безазотистых веществ не будет регенерирована в белки, а выделится в виде простых соединений. Другой недостаток теории регенерации белков заключается, по мнению Ивановского, в том, что Костычев учитывает только деятельность грибов; он совершенно не говорит о бактериях и о смене одних микроорганизмов другими. Вместо крайне схематической картины процессов разложения растительных остатков, данной Костычевым, Ивановский рисует картину происходящих процессов следующим образом:

«Под влиянием микроорганизмов безазотистые вещества более или менее быстро переводятся в простые соединения — газообразные или растворимые, и потому во всяком случае удаляются из разлагающегося вещества. Часть азота регенерирует при этом в живую плазму деятельных микробов. Разлагающийся субстрат, по мере своего разрушения, постоянно изменяет свои свойства, и потому в разное время получают преобладание разные микроорганизмы, одно поколение сменяется другим, процессы созидания чередуются и сопровождаются процессами разрушения, причем некоторая часть азота постоянно попадает в почвенный раствор, в виде простейших азотистых соединений — аммиака и азотной кислоты, и служит для питания высших растений. Когда безазотистое органическое вещество будет таким образом разложено и не бу-

дет нового притока его извне, большая часть действовавших до сих пор микроорганизмов должна погибнуть и преобладание получат микробы, способные разлагать накопившийся избыток белковых тел. Если почва снова получает прибыль органических остатков, чередование процессов начинается снова и т. д., но как бы мало азота ни содержало органическое вещество, при его разложении всегда образуется некоторое количество простейших азотистых соединений, необходимых для питания высших растений».

ИЗЪ ДѢЯТЕЛЬНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВЪ ВЪ ПОЧВѢ.

Дм. Ивановскаго

Обзоръ новѣйшихъ изслѣдованій, доложенный въ засѣданіи Почвенной Комиссіи 25 февраля 1891 года.

«Не безъ основанія можетъ быть поставленъ вопросъ: не сведется ли въ будущемъ успѣшная культура и богатые урожаи хлѣбныхъ растеній на приспособленіе почвы къ роскошному развитію въ ней микроскопическихъ организмовъ?» *(Фаминцынъ).*

Изученіе низшихъ организмовъ за послѣдніе 10—15 лѣтъ открыло неподозрѣваемую до тѣхъ поръ зависимость химическихъ превращеній. совершающихся въ почвѣ, отъ жизнедѣятельности этихъ простѣйшихъ живыхъ существъ. Физико-химическіе дѣятели (кислородъ, влажность, теплота, свѣтъ), которымъ еще такъ недавно приписывалось исключительное вліяніе на химическія метаморфозы почвы. въ настоящее время все болѣе и болѣе отступаютъ на второй планъ, ихъ роль въ большинствѣ случаевъ оказывается лишь посредствующею, они вліяютъ на химическіе процессы почвы лишь постольку, поскольку отъ нихъ зависитъ жизнь простѣйшихъ организмовъ. Тотъ, кто въ настоящее время хотѣлъ бы заняться изслѣдованіемъ химическихъ превращеній почвы, неминуемо долженъ сосредоточить свое вниманіе на изученіи жизни и дѣятельности этихъ простѣйшихъ живыхъ существъ. Къ тому же оказывается, что именно тѣ процессы, отъ которыхъ наиболѣе зависитъ плодородіе почвы и которые поэтому предпочтительно передъ другими привлекаютъ наше вниманіе, и находятся въ наибольшей зависимости отъ жизнедѣятельности микроорганизмовъ. Высшія растенія и эти простѣйшія существа оказываются въ такой тѣсной взаимной связи, что безъ однихъ, можно сказать, немыслимы другія.

Ивановский сумел дальше развить теорию Костычева о регенерации белков в почве и впервые формулировал ряд совершенно оригинальных представлений из области взаимоотношений микробиологических почвенных процессов и питания высших растений. В частности, он формулирует положение о роли микроорганизмов почвы как регуляторов мигра-

ции азота и агентов поглотительной способности почв в отношении азотистых соединений,— идеи, которые были оценены только в следующем столетии.

«Белковые вещества в почве постоянно разрушаются и вновь образуются под влиянием микроорганизмов. По мере разрушения и превращения в простейшие продукты (аммиак и азотную кислоту), эти последние переходят в почвенный раствор и отсюда поглощаются высшими растениями. Роль почвенных микроорганизмов относительно азотистых веществ с этой точки зрения во многом аналогична той, какую играет поглотительная способность почвы по отношению например калия; микроорганизмы не позволяют азотистым веществам чрезмерно концентрироваться в почвенном растворе и затем теряться с дренажными водами. По мере накопления простейших азотистых продуктов в почвенном растворе, они начинают потребляться микроорганизмами (как и высшими растениями), вырастает новое поколение и почвенный раствор беднеет азотистыми соединениями. Но вслед за сим и это поколение начинает гибнуть, так как среда делается неблагоприятною для его развития, и оно должно уступить место другим микробам, более приспособленным к новым условиям существования; начинается новое разрушение, новое образование простейших продуктов, пригодных для питания высших растений и т. д., постоянный круговорот изменений, представляющих разрушение и новообразование».

Как видно из последнего отрывка, в воззрениях Ивановского имелись уже в зародыше идеи о биологической природе поглотительной способности почв и о динамичности почвенных микробных ассоциаций.

В заключительной части своего выдающегося труда Ивановский подчеркивает, что того, «что уже дознано, достаточно для признания за микроорганизмами видной роли в генезисе и жизни почвы». Заканчивает он следующими словами: «Изучение низших организмов произвело реформу в физиологии и медицине. Нет сомнения, что то же будет и с почвоведением и сельским хозяйством».

В цитированных словах впервые было формулировано положение о роли микроорганизмов в «генезисе почвы» и о «реформе» почвоведения с этих позиций,— положения, впоследствии плодотворно развитые В. Р. Вильямсом.

Сочинение Ивановского настолько было насыщено новыми и оригинальными идеями, что далеко превосходило рамки обычного обзора. Это был выдающийся научный труд, которому равного не имелось в мировой почвенно-микробиологической литературе. Не удивительно, что несколько лет спустя, говоря о наиболее выдающихся русских работах по почвоведению, Докучаев называет, наряду с работами Костычева, Левинсона-Лессинга, Коржинского, также и сочинение Ивановского «Из деятельности микроорганизмов в почве» [14].

III. Симбиозы между микроорганизмами и высшими растениями М. С. Воронин, Ф. М. Каменский, П. С. Коссович и К. А. Тимирязев.

Одна из замечательных глав почвенной микробиологии, сложившаяся до работ Виноградского, это учение о симбиозах между почвенными микроорганизмами и корнями высших растений. Первое место занимает здесь открытие микориз, произведенное в 1880—1881 г. Ф. М. Каменским. Ф. М. Каменский (1851—1912) был выдающимся ботаником. В 1875 г. он получает в Страсбурге степень доктора философии после защиты диссертации об анатомическом строении примул. В 1877 г. он приват-доцент Львовского университета. В 1883 г. он переезжает в Петербург и с этого времени дальнейшая деятельность Ф. М. Каменского проходит в России. С-Петербургский университет присуждает ему степень магистра ботаники по защите диссертации о морфологии и биологии Monotrora hypopitys L. и некоторых других сапрофитов. В 1886 г. по защите диссертации о развитии и строении пузырчаток С.-Петербургский университет присуждает ему степень доктора ботаники. С 1886 г. он приват-доцент Новороссийского университета, а с 1888 г.

экстраординарный профессор. До последних лет жизни Каменский интересовался проблемами симбиоза и микориз. Он умер в 1912 г. в Варшаве от случайной уличной катастрофы [12].

Исследуя анатомическое строение бесхлорофильного высшего растения — вертляницы (Monotropa hypopitus L.), Каменский сделал чрезвычайной важности наблюдение, что корень этого растения вместе с его разветвлениями, особенно все верхушки корня, покрыты толстым покровом грибного мицелия. Подобные факты были известны и до Каменского, но они трактовались с точки зрения обычного паразитизма. Каменский с необычной научной прозорливостью разгадал истинный смысл этого явления, распознав в нем новый тип симбиотических взаимоотношений между высшим растением и грибом [2]. «Таким образом,— писал Каменский,— перед нами два растительных организма: с одной стороны — Monotropa, с другой — гриб (вид которого пока не определен), которые взаимно помогают друг другу в совместной жизни. Корни Monotropa представляют грибу удобную основу для распространения и роста в виде поверхности более широкой и опоры более крепкой, чем таковые у зерен плеска или частиц земли. Гриб, в свою очередь, чтоб отплатить за гостеприимство, снабжает Monotropa пищей. Его мицелиальный слой заменяет эпидермис и отходящие от него в почву гифы выполняют для Monotropa ту же физиологическую функцию, что и корневые волоски» [20].

Работа Каменского обратила внимание широких кругов ученых на взаимоотношения почвенных грибов и корней высших растений. В 1885 г. немецкий ботаник Франк опубликовал сообщение о взаимоотношениях корней деревьев с грибными гифами. Симбиозы грибов с корнями высших растений он предложил называть микоризами и устанавливал наличие таковых у многих древесных пород. Для всех объективных наблюдателей было ясно, что приоритет открытия микориз принадлежит не Франку, а Каменскому [21]. Этот вопрос был поднят на страницах немецкой печати известным русским микологом Ворониным [9]. Франк возражал, что его точка зрения на микоризы отличается от взглядов Каменского. В действительности, воззрения Каменского были значительно шире, чем считал Франк. Каменский принимал, что наблюдаемые на корнях многих древесных пород грибные сплетения играют не роль симбионтов, а паразитов. Но, кроме того, он выдвинул идею о совершенно новом типе взаимоотношений, когда одна и та же грибница связана с корнями деревьев паразитическими отношениями, а с корнями вертляницы — симбиотическими. Эта идея Каменского сохраняет свое значение по настоящее время. Поэтому необходимо считать, что именно работами Каменского были открыты микоризные симбиозы.

Как уже отмечалось, Каменский придерживался взгляда, что компоненты микоризы взаимно обмениваются «услугами». Такое объяснение оказывалось в ряде случаев мало подходящим, например, для эндотрофных микориз. В 1891 г. Костычевым [24] была предложена новая гипотеза физиологического действия микориз, основанная на теории регенерации почвенных белков. Если тело гриба разлагается при наличии достаточного количества безазотистых веществ, азотистые вещества гриба полностью регенерируют в белковые соединения, и элементы азотистого питания высших растений не образуются. И, наоборот, если органические вещества разлагаются при недостатке безазотистых веществ, регенерация белков затруднена и образуются простые азотистые соединения, пригодные для питания высших растений. «С этой точки зрения всякую

---

[2] Первая небольшая заметка об открытии симбиоза между корнями Monotropa и почвенным грибом сделана Ф. М. Каменским на польском языке в 1880 г. [18]. Более подробное предварительное сообщение опубликовано в 1881 г.

микоризу,— согласно гипотезе Костычева,— можно рассматривать как аппарат, при помощи которого органические вещества (например, отжившие части корней и проч.) освобождаются от излишнего количества безазотистых соединений, и дают материал, из которого постоянно может образоваться аммиак, не подлежащий превращению в белковые вещества вне тканей высшего растения».

Кроме проблемы микориз, русская микробиология 80-х и 90-х гг. успешно разрабатывала другие стороны симбиотических взаимоотношений микроорганизмов и высших растений. Н. П. Тишуткин (1889—1891) [30] по предложению А. Ф. Баталина исследовал роль микроорганизмов в питании насекомоядных растений (Pinguicula vulgaris, Drosera rotundifolia, Nepentes Mastersii). Он установил, что причиной растворения белковых веществ соком листьев Pinguicula и Drosera, а также у Nepentes является не выделение этими органами пепсина (как принимали Дарвин и другие исследователи), а наличие в соке многочисленных микроорганизмов, главным образом бактерий, которые своими протеолитическими энзимами растворяют белковые вещества. Название «насекомоядные растения» надо понимать в том смысле, что растение только поглощает продукты жизнедеятельности низших организмов. Роль самого растения сводится только на отделение сока, пригодного для жизни микроорганизмов.

Одним из наиболее замечательных примеров симбиоза между бактериями и высшими растениями являются клубеньки на корнях бобовых. Открытие бактерий в клубеньках бобовых было сделано еще в 60-х гг. Ворониным [10]. Он несомненным образом установил, что в клетках определенных тканей корневых клубеньков содержатся несметные количества мельчайших телец, которые по внешнему виду и движениям совершенно похожи на бактерии. Самые клубеньки Воронин признал за болезненные образования, вызванные заражением корней бактериями. Работа Воронина, как отмечает К. А. Тимирязев [28], тем более замечательна, что явилась в 60-х гг. почти первым указанием на болезнетворную роль бактерий. В ней впервые устанавливалась возможность бактериальных заболеваний растений. Открытие Воронина долгое время оставалось неоцененным. Только в 1886 г. Гельригель и Вильфарт установили способность бактерий в клубеньках бобовых усваивать молекулярный азот воздуха. Это открытие привлекло внимание ученых всего мира, так как оно разъясняло стародавний вопрос о способности бобовых растений использовать азот воздуха.

Вскоре после появления первого сообщения Гельригеля в разных странах были предприняты проверки этих результатов. Физико-математический факультет Московского университета предложил вопрос о происхождении азота бобовых растений как тему на соискание золотой медали. Последняя была присуждена ученику К. А. Тимирязева студенту П. С. Коссовичу, впоследствии выдающемуся почвоведу, физиологу растений и микробиологу. Коссович [3] полностью подтвердил опыты Гельригеля.

Дальнейшие исследования этого вопроса направлены были в Западной Европе по пути изолирования этих бактерий и изучения их особенностей, а в России — по пути изучения самого механизма азотоусвоения. Инициатором и руководителем этих исследований был К. А. Тимирязев. Анализируя исследования Лорана, Пражмовского и Бейеринка, стремившихся установить способность клубеньковых бактерий усваивать молекулярный азот в чистых культурах, Тимирязев пришел к выводу, что эта способность не доказана и что «это составляет пока самую уязви-

[3] Работа Коссовича опубликована в «Известиях Петровской с.-х. академии» [23]. и в зарубежной печати [23а]. Об этой и следующих работах П. Коссовича см. Тимирязев К. А. Происхождение азота растений, 1892 [28].

мую сторону всей теории». С другой стороны,— отмечал Тимирязев,— не подлежит сомнению, что «азот усвояется при совокупном действии растений, бактерий и почвы». В начале 90-х гг. немецкий ботаник Франк утверждал, что клубеньковые бактерии находятся не только в корневых клубеньках бобовых, но также в стеблях и листьях и способность усваивать молекулярный азот присуща всему растению. В 1892 г. П. С. Коссович провел по инициативе К. А. Тимирязева обстоятельные опыты с горохом, в которых путем замещения почвенного воздуха смесью водорода и кислорода удалялся из почвы весь азот. Он установил что в этих условиях растение не способно усваивать молекулярный азот и не развивается. Таким образом, было доказано, что для усвоения азота необходимо, чтобы он находился именно в почве.

«Остается сделать еще один шаг,— писал К. А. Тимирязев,— задаться вопросом: где же лежит очаг деятельности этих бактерий? Всего естественнее предположить, что в самых желвачках». Для решения этого вопроса Тимирязев [29] провел ряд наблюдений над газовым обменом клубеньков. Из личного разговора с Бертло ему было известно, что подобный опыт не привел к результатам, но Тимирязев предполагал, что методы газового анализа, применявшиеся Бертло, могли быть недостаточно чувствительны. Поэтому Тимирязев решил еще раз повторить эти опыты, воспользовавшись для этого своим прибором, позволявшим измерять очень малые объемы газа. Опыты эти (в числе 40) как над клубеньками, отделенными от корней, так и над корнями, покрытыми клубеньками, дали отрицательный результат: газовый обмен, смотря по продолжительности опыта, соответствовал или нормальному, или интрамолекулярному дыханию, но усвоения азота не было. Напротив, в опытах наблюдалась всегда незначительная прибыль азота в атмосфере, вследствие диффузии его из воздушных межклетников клубеньков. Тимирязев на основании этих опытов высказал предположение, что усвоение азота под влиянием клубеньковых бактерий происходит не в клубеньках, а в почве. Как известно, и в настоящее время этот вопрос нельзя считать полностью разрешенным.

IV. Общая характеристика русской почвенной микробиологии к началу 90-х гг. Выводы

На основании материалов настоящего и предыдущего очерков необходимо притти к заключению, что уже к началу 90-х гг. русская наука имела по ряду важнейших вопросов почвенной микробиологии выдающиеся достижения. Ниже указаны важнейшие события истории русской почвенной микробиологии этого периода.

1881. Ф. М. Каменский публикует предварительное сообщение об открытии мутуалистического симбиоза между почвенными грибами и корнями высшего растения [19].
1882. Подробное сообщение об этом же [20].
1883. Л. Л. Гейденрейх публикует первое на русском языке подробное изложение методов бактериологических исследований, в том числе и почвы [11].
1884. Первая научная публикация С. Н. Виноградского. О влиянии внешних условий на развитие Mycoderma aceti [2]. Разработка оригинальной методики культуры микроорганизма на предметных стеклах в условиях постоянно сменяющейся питательной среды.
1886. Исследования П. А. Костычева об участии микроорганизмов в разложении в почве растительных остатков и образовании почвенного перегноя [25].
1887. Публикация С. Н. Виноградского о серобактериях. Открытие хемосинтеза [3].
1888. Публикация С. Н. Виноградского о железобактериях [4].
1889. П. А. Костычев формулирует теорию регенерации в почве белков разлагающихся растительных остатков [26].
1889. Н. П. Тишуткин устанавливает, что переваривание белков насекомоядными растениями производится при помощи микроорганизмов [30].
1889. Д. И. Ивановский публикует первое исследование о болезнях табака [16].
1889. С. Н. Виноградский публикует исследование о плеоморфизме бактерий [5].
1890. Первые публикации С. Н. Виноградского о бактериях нитрификации [6].

1890. П. А. Костычев формулирует положение о регенерации в почве фосфорных соединений [27].
1890. Речь Г. Г. Густавсона на VIII съезде русских естествоиспытателей и врачей «О микробиологических основаниях агрономии» [13].
1890. Исследование П. С. Коссовича о происхождении азота бобовых растений, подтверждающее теорию Гельригеля [23].
1891. Дальнейшие публикации С. Н. Виноградского о бактериях нитрификации [7].
1891. П. А. Костычев выдвигает новую гипотезу о физиологическом значении микориз [24].
1891. Д. И. Ивановский публикует первое систематическое изложение почвенной микробиологии [15].
1891. С. Н. Виноградский переезжает в Петербург в качестве руководителя отдела общей микробиологии Института экспериментальной медицины.
1892. С. Н. Виноградский публикует первое эколого-географическое исследование по морфологии нитрифицирующих бактерий в разных частях света [8].
1892. Исследование К. А. Тимирязева. Газовый обмен в корневых желвачных бобовых растений [29].
1892. Д. И. Ивановский открывает фильтрующийся вирус [17].

Из этого перечня видно, какая напряженная и выдающаяся по своим научным результатам работа проводилась в 80-х и в начале 90-х гг. русскими почвенными микробиологами. Таким образом изумительная по глубине и оригинальности творческая деятельность С. Н. Виноградского не была изолированным явлением. Проблемы почвеной микробиологии разрабатывались наравне с С. Н. Виноградским, значительной группой исследователей, среди которых значились имена П. А. Костычева, К. А. Тимирязева, Д. И. Ивановского и др.

Институт почвоведения
Академии Наук Каз. ССР
Алма-Ата

Получено 19.XII.1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Бекетов А. Н. Речь председателя распорядительного комитета. VIII съезд русских естествоиспытателей и врачей. СПб., 1890 (общий отдел, стр. 4).
2. Виноградский С. Н. О влиянии внешних условий на развитие Mycoderma aceti. Тр. СПб. об-ва естествоиспыт., 14, вып. 2, 1884.
3. Виноградский С. Н. Über Schwefelbakterien, Bot. Ztg. 1887.
4. Виноградский С. Н. Über Eisenbakterien. Bot. Ztg., 1888.
5. Виноградский С. Н. Sur le pleomorphisme des bacteries. Ann. Inst. Pasteur, 3, 1889.
6. Виноградский С. Н. Recherches sur les organismes de la nitrification. C. R. Paris, 110, 1890; Ann. Inst. Pasteur, 4, 1890.
7. Виноградский С. Н. Recherches sur les organismes de la nitrification. Ann. Inst. Pasteur, 5, 1891.
8. Виноградский С. Н. К морфологии организмов образования селитры в почве. Арх. биол. наук, 1, 1892.
9. Воронин М. С. Über die Pilzwurzel (Mycorhiza) von B. Frank. Ber. deut. Bot. Ges., 3, 1885.
10. Воронин М. С. Über die bei der Schwarzerle (Alnus incana) und der gewöhnlichen Gartenlupine (Lupinus mutabilis) auftretenden Wurzelanschwellungen. Mem. Acad. Sci St. Petersb. ser. 7, 10, No 6, 1866.
11. Гейденрейх Л. Л. Способы исследования низших организмов. Врач, 1883.
12. Гриневецкий Б. Памяти проф. Ф. М. Каменского. Тр. бот. сада имп. Юрьевского университета. 14, вып. 1, 1914.
13. Густавсон Г. О микробиологических основаниях агрономии. VIII съезд русских естествоисп. и врачей. СПб., 1890; то же Северный вестник, № 2, 1890.
14. Докучаев В. В. К вопросу об открытии при императорских русских университетах кафедр почвоведения и учения о микроорганизмах (в частности, бактериологии). СПб., 1895.
15. Ивановский Д. И. Из деятельности микроорганизмов в почве. Гр. Имп. Вольн.-эконом. об-ва, № 6, 1891.
16. Ивановский Д. И. Рябуха, болезнь табака, ее причины и средства борьбы с нею. Тр. имп. Вольн. экон. об-ва, № 6, 1889.
17. Ивановский Д. И. О двух болезнях табака. Табачная пепелица. Мозаичная болезнь. СПб., 1892.
18. Каменский Ф. М. O hystoryi rozwoju i o zywieniu się korzeniuwki pasozytnej. Kosmos, V, 122, 1880.

19. Каменский Ф. М. Die Vegetationsorgane der Monotropa hypopitys L. Bot. Ztg., 39, 458, 1881.
20. Каменский Ф. М. Les organes végétatifs du Monotropa hypopitys L. Mémoires de la Société nationale des sciences naturelles et mathématiques de Cherbourg. 24, 1882.
21. Каменский Ф. М. О симбиотическом соединении мицелия грибов с корнями высших растений. Тр. СПб. об-ва естествоисп. 17, вып. 1, 1886.
22. Ковалевский В. Запросы современного сельского хозяйства к естествознанию. VIII съезд русских естествоиспытателей и врачей. СПб., 1890.
23. Коссович П. С. Изв. Петровской с.-х. академии, 1890.
23а. Коссович П. Durch welche Organe nehmen die Leguminosen den freien Stickstoff auf? Bot. Zeitg., 1892.
24. Костычев П. А. Состав органических веществ почв (перегноя) в связи с вопросом о полезности микориз. Тр. СПб. об-ва естествоиспыт., 21, Отделение ботаники, 1891.
25. Костычев П. А. Почвы черноземной области России, их происхождение, состав и свойства. Часть I. Образование чернозема. СПб., 1886.
26. Костычев П. А. Образование и свойства перегноя. Тр. СПб. об-ва естествоиспытателей, 20, отд. ботаники, 1889.
27. Костычев П. А. Об изменениях составных частей почвы, содержащих фосфор. VIII съезд русских естествоисп. и врачей. СПб., 1890.
28. Тимирязев К. А. Земледелие и физиология растений. II. Происхождение азота растений. Москва, 1893.
29. Тимирязев К. А. Газовый обмен в корневых желвачках бобовых растений. Тр. СПб. об-ва естествоиспытателей, 23 (протоколы) 1892.
30. Тишуткин Н. П. О роли бактерий в питании насекомоядного растения Pinguicula. Тр. СПб. об-ва естествоисп. 20, отд. ботаники. 1889. О роли микроорганизмов в питании высших растений. Тр. СПб. об-ва естествоиспыт. 21, отд. ботаники, 1891.

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

БИБЛИОГРАФИЯ

I. Общая микробиология

Алекперов, Шафи. Невидимые. Баку. Азернешр. 1949. 88 стр. с илл. Тираж 10000 экз. На азербайдж. языке. Цена 2 руб.

Бошьян Г. М. О природе вирусов и микробов. М. Медгиз. 1949. 148 стр. с илл. Тираж 25000 экз. Цена в перепл. 8 р. 30 к.

Бучнев К. Н. Питательная среда из гороха, приготовленная путем ферментативного гидролиза.— Труды Дальневосточного научно-исследов. ветеринарного института, т. II, 1949, стр. 217—251, с библиографией (135 назв.).

Валлери-Радо Р. Жизнь Пастера. Сокращ. перевод с последнего франц. издания А. Н. Калитеевской. Под ред. и с пред. Н. А. Красильникова. М. Изд-во иностранной литературы. 1950. 424 стр. Цена 20 р. в перепл.

Визир П. А. Борьба с идеализмом в микробиологии. Киев. Изд. Академии Наук Укр.ССР. 1950. 42 стр. Тираж 2000 экз. Цена 1 р. 25 к. (на украин. языке).

Войткевич А. Ф. Контрольные задания по курсу «Микробиология» (Для студентов Зоотехнического факультета). М. Изд. Всесоюзного с.-х. института заочного образования. 1950. 6 стр. Тираж 1000 экз.

Гаузе Г. Ф. Некоторые проблемы географии микробов.— Успехи современной биологии, т. XXIX, вып. 2, 1950, стр. 263—272.

Джапаридзе Л. И. и Коберидзе А. В. Основы микробиологии. Конспективный курс. (Для студентов-заочников факультета естествознания педагогич. институтов). Тбилиси. Изд. Научно-методич. кабинета Мин-ва просвещения Груз.ССР. 1950. 71 стр. с илл. Тираж 1000 экз. на груз. языке. Цена 2 р.

Долгушин Ю. О природе вирусов и микробов. (По поводу одноименной книги Г. М. Бошьяна).— Знание — сила, 1950, № 4, стр. 31—32.

Косиков К. В. Наследование приобретенных признаков у микроорганизмов.— Сборн. «Против реакционного менделизма-морганизма». М.— Л., 1950, стр. 230—271.

Меннер В. В. Советская микропалеонтология (1930—1949) — детище сталинских пятилеток.— Бюллетень Московского О-ва испытателей природы. Отдел геологич. 1950, вып. 2, стр. 24—43, с библиографией (116 назв).

Направленная изменчивость бактерий под влиянием продуктов жизнедеятельности других форм микроорганизмов. Сообщ. 1. М. О. Стрешинский. Обзор литературы.— Журнал общей биологии, 1950, № 2, стр. 131—144.

Смалий В. Т. Окисление разных соединений аммиака нитрифицирующими бактериями.— Микробиологический журнал, т. XI, вып. 4, 1949, стр. 25—33 (на украинском языке).

Таусон Т. А. Биологический синтез иодоформа.— Доклады Академии Наук СССР, Новая серия, т. LXXII, № 1, 1950, стр. 153—155.

Тихоненко А. С. Явление бактериофагии у актиномицетов.— Природа, 1950, № 3, стр 59—61.

II. Сельскохозяйственная микробиология

Агатов П. А. Окислительно-восстановительный потенциал вирулентной группы вируса табачной мозаики.— Доклады Академии Наук СССР, Новая серия, т. LXXII, № 1, 1950, стр. 145—148.

Азарян Э. Х. К бислогии клубеньковых бактерий вик Армении.— Микробиологический сборник (Академия Наук Арм.ССР), вып. 4, 1949, стр. 85—98.

Бактериальные болезни кок-сагыза. Сообщ. 2. Н. С. Новикова. Этиология увядания цветоносов кок-сагыза.— Микробиологический журнал, т. XI, вып. 3, 1949, стр. 18—22 (на украинском языке).

Бактериальные болезни, поражающие зернобобовые культуры в условиях УССР. Сообщ. 2. К. И. Бельтюкова. О случаях совместного поражения фасоли бак-

териозами и вирусными болезнями.— Микробиологический журнал, т. XI, вып. 3, 1940, стр. 10—17 (на украинском языке).

Бершова О. И. Влияние некоторых антибиотиков на азотобактер.— Микробиологический журнал, т. XI, вып. 4, 1949, стр. 3—42 (на украинском языке).

Борисенко С. И. Протравливание семян гороха в борьбе с аскохитозом.— Советская агрономия, 1950, № 3, стр. 81—82

Братусь В. Н. Главнейшие болезни древесных пород Бахчисарайского лесхоза Крымской области. Труды Киевского с.-х. института, т. V, 1949, стр. 270—279.

Буткевич В. В. Стерилизация почвы. М. Сельхозгиз. 1950. 120 стр. с илл. Тираж 10 000 экз. Цена 1 р. 95 к.

Володько Ф. Е. Ржавчина и увядание цветоносов кок-сагыза на торфяных почвах БССР.— Известия Академии Наук БССР, 1950, № 2, стр. 77—82.

Вредители и болезни лесных полос. Симферополь. Крым-издат. 1950. 80 стр. с илл. Тираж 3000 экз. Цена 3 р. (Крымский научно-исследов. институт защиты растений).

Гаврилов К. А. Влияние состава лесонасаждений на микрофлору и фауну лесных почв.— Почвоведение, 1950, № 3, стр. 129—141.

Галачьян Р. М. Методы провокационных посевов в определении устойчивости сортов томатов к бактериальному раку.— Микробиологический сборник (Академия Наук Арм.ССР), вып. 4, 1949, стр. 109—125.

Гвритишвили С. Т. К фитопатологической оценке хозяйственных и перспективных сортов пшениц к ржавчинам хлебных злаков.— Труды Института защиты растений Академии Наук Груз.ССР, т. VI, 1949, стр. 73—84 (на грузин. языке).

Геллер И. А., Неговский Н. А. и Николаева А. Ф. О влиянии азотобактера на урожай и сахаристость сахарной свеклы различных сортов.— Доклады Академии Наук СССР, Новая серия, т. LXXI, № 3, 1950, стр. 523—526.

Горленко М. В. Важнейшие результаты изучения болезней сельскохозяйственных растений в СССР.— Бюллетени Москов. о-ва испытателей природы, Отд. биолог., 1950, вып. 1, стр. 62—68.

Горленко М. В. и Воронкевич И. В. Черная бактериальная пятнистость томатов.— Доклады Всесоюз. академии с.-х. наук им. Ленина, 1950, вып. 3, стр. 24—29.

ГОСТ 5278-50. Азотобактерин (азотоген). Срок введения 1/VII 1950 г. М. Стандартгиз. 1950. 3 стр. Тираж 4000 экз. Цена 35 к.

Грушевой С. Е. Допустимая восприимчивость табака к черной корневой гнили. Агробиология, 1950, № 2, стр. 75—82.

Грушевой С. Е. и Матвеенко Т. М. Болезни и вредители табака и махорки. М. Пищепромиздат. 1950. 148 стр. с илл. Тираж 4000 экз. Цена 9 р. 70 к.

Губанов Г. Я. Нарушение углеводного обмена под действием таннидов у пораженного вилтом хлопчатника.— Доклады Академии Наук СССР, Новая серия, т. LXXI, № 3, 1950, стр. 565—568.

Гуринович Е. С. К характеристике морфологических и культуральных признаков некоторых фитопатогенных бактерий.— Известия Академии Наук БССР, 1949, № 6, стр. 139—143.

Демьяненко М. П. и Воронец Н. А. К вопросу о микрофлоре длительно хранящегося зерна.— Труды научно-исследов. института Министерства гос. продовольственных и материальных резервов СССР, вып. I, 1950, стр. 40—41.

Езерская Е. И. К вопросу о болезнях кок-сагыза.— Научные труды Украинского научно-исследоват. института овощеводства, т. I, 1949, стр. 107—114.

Езубчик А. А. и Канашевич Э. И. Значение микроорганизмов в сельском хозяйстве. Минск. Гос. изд-во БССР, 1950. 44 стр. с илл. Тираж 10000 экз. (на белорусском языке). Цена 1 р.

Запрометов Н. Г. Гельминтоспориоз и септориоз зерновых культур и борьба с ними.— Соц. сельское хозяйство Узбекистана, 1950, № 1, стр. 78.

Зиновьева Х. Г. и Савченко-Бельская О. Т. Некоторые данные о местных штаммах азотобактера.— Микробиологический журнал, т. XI, вып. 3, 1949, стр. 3—9 (на украинском языке).

Имерлишвили М. И. Опыт применения бактериального метода борьбы против хлопковой совки. (Chloridea obsoleta F.).— Труды института защиты растений Академии Наук Груз.ССР, т. VI, 1949, стр. 61—64.

Калашников К. Я. Использование подпочвенного орошения для подавления болезни томатов.— Сад и огород, 1950, № 3, стр. 77—78.

Канчавели Л. Усыхание лимонных деревьев (мальсекко) и меры борьбы. Тбилиси. Изд. Академии Наук Груз.ССР. 1949. 48 стр. с илл. Тираж 2000 экз. на груз. яз. Цена 2 р.

Канчавели Л. А. и Мелия М. С. Материалы к изучению болезней кормовых растений в Грузинской ССР.— Труды Института защиты растений Академии Наук Груз.ССР, т. VI, 1949, стр. 117—194 (на грузин. языке).

Кварцхава П. А. Инфекционное камедетечение цитрусовых в условиях Западной Грузии.— Бюллетень Всесоюз. научно-исследоват. института чая и субтропич. культур, 1949, № 4, стр. 24—34.

Киракосян А. В. Развитие микроорганизмов в ризосфере некоторых сельскохозяйственных культур.— Микробиологический сборник (Академия Наук Арм. ССР), вып. 4, 1949, стр. 67—83.

Киракосян А. В., Петросян А. П. и Азарян Э. Х. Влияние бактерий активаторов на эффективность азотобактера.— Микробиологический сборник. (Академия Наук Арм.ССР), вып. 4, 1949, стр. 43—65.

Короткова П. И. Протравливание семян гороха против аскохиты.— Селекция и семеноводство, 1950, № 4, стр. 69—71.

Костюк П. Н. Бактериальный рак виноградной лозы и меры борьбы с ним. Одесса. Изд. Украинского научно-исследов. института виноградарства и виноделия им. В. Е. Таирова. 1950. 5 стр. с илл. Тираж 2000 экз. Цена не указ.

Лазарев С. Ф. Бактеризация семян.— Соц. сельское хоз-во Узбекистана, 1950, № 1, стр. 34—37.

Маврицкий Н. В. Бактериальные комплексы ризосферы сельскохозяйственных культур.— Научные труды Украинского научно-исследоват. института овощеводства, т. I, 1949, стр. 39—49.

Миняева О. М. О некоторых особенностях развития возбудителя антракноза клевера.— Бюллетень Московского общества испытателей природы, Отдел биологич., 1950, вып. 2, стр. 43—49.

Миронов Е. В. Внесение известкового туфа — средство борьбы с килой капусты. Сад и огород, 1950, № 3, стр. 52—54.

Митюшова Н. М. К вопросу о присутствии бактерий в тканях растений.— Ученые записки Ленинградского государственного университета, Серия биологич. наук, вып. 23, 1950, стр. 80—81.

Митюшова Н. М. О микрофлоре навоза, минерализующей гумусовые вещества почвы.— Ученые записки Ленинградского гос. университета. Серия биологич. наук. Вып. 23, 1950, стр. 82—85.

Морочковский С. Ф. Условия развития кагатной гнили сахарной свеклы и меры борьбы с ней. Киев. Изд. Киевского гос. университета им. Т. Г. Шевченко. 1950. 39 стр. Тираж 4000 экз. Цена 2 руб.

Нацарашвили А. С. Основные болезни виноградной лозы и борьба с ними. Тбилиси. Госиздат Груз.ССР. 1950. 52 стр. с илл. Тираж 2000 экз. на груз. языке. Цена 1 р. 50 к.

Осницкая Е. А. Предпосадочное протравливание лука-севка против шейковой гнили. Сад и огород, 1950, № 4, стр. 70—72.

Павловский Е. Н. и Штейнберг Д. М. Совещание по борьбе с вредителями и болезнями лесных полезащитных полос (Ленинград. февр. 1950 г.).— Вестник Академии Наук СССР, 1950, № 4, стр. 84—87.

Паносян А. К. О некоторых биологических свойствах шамбалы (пажитника Trigonella Foenum graecum). Микробиологический сборник (Академия Наук Арм.ССР), вып. 4, 1949, стр. 99—108.

Паносян А. К., Тараян Ш. С. и Арутюнян Р. Ш. К вопросу о влиянии корневой системы злаковых на ассимиляцию азота.— Микробиологический сборник (Академия Наук Арм.ССР), вып. 4, 1949, стр. 3—12.

Парфилова М. Е. Изучение болезней томатов в условиях Львовской области.— Научные записки Львовского с.-х. института, т. II, 1949, стр. 101—117.

Парфилова М. Е. О заболеваниях ракоустойчивых сортов картофеля в условиях Львовской области.— Научные записки Львовского с.-х. института, т. II, 1949, стр. 93—99.

Петросян А. П., Наринян Л. А. и Карагулян С. А. Распространенность азотфиксирующих бактерий в ризосфере хлопчатника и люцерны.— Микробиологический сборник (Академия Наук Арм.ССР), вып. 4, 1949, стр. 13—24.

Петросян А. П. и Киракосян А. В. Специфичность азотобактера для различных сельскохозяйственных культур.— Микробиологический сборник (Академия Наук Арм.ССР), вып. 4, 1949, стр. 25—42.

Подуфалый Т. И. Борьба с хлорозом яблони и груши.— Сад и огород, 1950, № 4, стр. 31—34.

Рубенчик Л. И., Смалий В. Т., Зиновьева Х. Г. и др. Опыты применения азотогена в Украинской ССР в послевоенное время.— Микробиологический журнал, т. XI, вып. 4, 1949, стр. 15—24 (на украинском языке).

Сакварелидзе Н. А. Материалы к изучению фикомицетов, распространенных на бахчевых и огородных культурах в Грузии.— Труды Института защиты растений Академии Наук Груз.ССР, т. VI, 1949, стр. 135—157 (на грузин. языке).

Самунджева Э. М. Некоторые данные по изучению переносчика столбура томатов в Грузии.— Труды Института защиты растений Академии Наук Груз.ССР, т. VI, 1949, стр. 159—162.

Смирнова В. И. Микробиологическая активность при окультуривании иллювиального горизонта дерново-подзолистых почв.— Доклады Московской с.-х. академии им. Тимирязева, вып. 11, 1949, стр. 168—171.

Таусон В. О. О разложении органических веществ микроорганизмами почв Памира.— Труды Института физиологии растений им. Тимирязева, т. VII, вып. 1, 1950, стр. 18—50.

Теппер Е. З. Последовательное участие микроорганизмов в аэробном разложении яровой соломы и образование при этом гумусоподобных веществ.— Доклады Московской с.-х. академии им. Тимирязева, вып. 11, 1949, стр. 154—158.

Указания по борьбе с инфекционным усыханием (мальсекко) лимонов. Л. Изд. Всесоюзного ин-та защиты растений. 1950. 14 стр. с илл. Тираж 500 экз. Цена не указ.

Указания по использованию приема бактеризации семян сельскохозяйственных культур специфическими расами азотобактера и проведению опытов с ними в 1950 году. М. Изд. Зонального научно-исследов. института зернового хозяйства районов нечерноземной полосы. 1950. 17 стр. Тираж 1000 экз. Цена не указ.

Федоров М. В. Влияние на фиксацию азота атмосферы азотобактером высокомолекулярных соединений азота.— Доклады Московской с.-х. академии им. Тимирязева, вып. 11, 1949, стр. 150—153.

Федоров М. В. Влияние отдельных питательных элементов на фиксацию азота атмосферы азотобактером.— Доклады Академии Наук СССР, Новая серия, т. LXXII, № 1, 1950, стр. 157—160.

Фомин А. Е. Изготовление и применение бактериальных удобрений. Саратов. Институт зернового хозяйства Юго-Востока СССР. 1950. 6 стр. Тираж 3000 экз. Цена не указ.

Хазарадзе Е. П. Материалы к изучению болезней бобовых в Грузинской ССР. Труды Института защиты растений Академии Наук Груз. ССР, т. VI, 1949, стр. 285—297 (на грузин. языке).

Хазарадзе Е. П. Материалы по изучению гнили граната — Zythia Versoniana Sacc. в условиях Грузии.— Труды Института защиты растений Академии Наук Груз.ССР, т. VI, 1949, стр. 23—41 (на грузинском языке).

Харебава Г. И. Пероксидаза чайного листа.— Бюллетень Всесоюз. научно-исследов. института чая и субтропических культур, 1949, № 4, стр. 49—58.

Цакадзе Т. А. Преждевременное отсыхание косточковых культур, вызванное представителями рода Leucostoma.— Труды Института защиты растений Академии Наук Груз.ССР, т. VI, 1949, стр. 43—50 (на груз. языке).

Церетели Л. Я. и Исарлишвили С. Я. Предварительные данные по изучению серой плесени черенков герани — Botrytis geranii Seaver.— Труды Института защиты растений Академии Наук Груз.ССР, т. VI, 1949, стр. 51—60.

Черемисинов Н. А. Болезни кок-сагыза и меры борьбы с ними. Курск. изд-во «Курская правда». 1950. 52 стр. с илл. Тираж 10262 экз. Цена 1 р. 40 коп.

Черноцов И. А. Биржевые грибы и гнили древесины лиственных пород. М.— Л. Гослесбумиздат. 1949. 7 стр. Тираж 4000 экз. Цена не указ.

Шашин А. И. О сроках борьбы с паршой яблони.— Сад и огород, 1950, № 3, стр. 21—23.

Шошиашвили И. И. Материалы по изучению вредоносности диплодиоза кукурузы и меры борьбы с ним.— Труды Института защиты растений Академии Наук Груз.ССР, т. VI. 1949. стр. 85—99 (на груз. языке).

Шошиашвили И. Пятнистость косточковых культур и борьба с ней. Тбилиси. Изд. Академии Наук Груз.ССР, 1949, 28 стр. с илл. Тираж 2000 экз. на грузин. языке. Цена 1 р.

Шулындин А. Ф. Поражаемость фузариозом чечевицы при весеннем и летнем посеве.— Агробиология, 1950, № 2, стр. 144—147.

III. Техническая и пищевая микробиология

Аренштейн А. М. и Разумов А. С. Проект инструкции по учету микронаселения в водопроводной воде. М. Изд. «ВОДГЕО». 150. 20 стр. с илл. Тираж 500 экз. Цена 1 р. 50 к.

Берг В. А. и Кондо Г. Ф. Химическая характеристика вин, пораженных молочнокислым скисанием.— Виноделие и виноградарство СССР, 1950, № 4, стр. 31—33.

Блок Г. Сквашивание сливок в зимнее время.— Молочная промышленность, 1950, № 2, стр. 43—44.

Дейнега Ю. Д. Окислительно-восстановительный потенциал и его значение в процессах брожения.— Труды Киевского технологического института пищевой промышленности им. Микояна. Студенческие работы. Вып. 1, Киев. 1949, стр. 26—34.

Кирьялова Е. Н. Вопросы микробиологии плодово-ягодного виноделия.— Известия Академии Наук Латв.ССР, 1950, № 1, стр. 87—92.

Малков А. М. Об управлении процессом автолитической порчи дрожжей.— Доклады Академии Наук СССР, Новая серия, т. LXXII, № 1, 1950, стр. 85—88.

Мальцев П. М., Зазирная М. В. и Гурфинкель А. И. Оседание дрожжей при дображивании пива.— Труды Киевского технологического института пищевой промышленности им. Микояна, вып. 9, 1949, стр. 61—63.

Николаенко М. М. Новое в старении алкогольных напитков, полученных путем брожения.— Труды Киевского технологического института пищевой промышленности им. Микояна. Студенческие работы. Вып. 1. Киев. 1949, стр. 43—47.

Применение дрожжей чистой культуры в виноделии. Одесса. Изд. Украинского научно-исследов. института виноградарства и виноделия им. В. Е. Таирова. 1950. 8 стр. Тираж 1500 экз. Цена не указ.

Рудаков Б. И. Микофлора изотермических вагонов.— Природа, 1950, № 2, стр. 37—38.

Саенко Н. Ф. Повышение спиртоустойчивости хересных дрожжей путем их направленного воспитания. Виноделие и виноградарство СССР, 1950, № 2, стр. 22—26.

Скобло Д. И и Ройтер И. М. Способ стерилизации бродильных аппаратов спиртовых заводов, работающих по непрерывной схеме.— Труды Киевского технологического института пищевой промышленности им. Микояна, вып. 9, 1949, стр. 93—95.

Циелен Э. Содержание некоторых липотронных факторов в дрожжах Saccharomyces cerevisiae.— Известия Академии Наук Латвийской ССР, 1950, № 1, стр. 85—86.

Яковенко Г. З. Повышение производительности дрожжевых сепараторов.— Гидролизная промышленность СССР, 1950, № 1, стр. 19.

ХРОНИКА

О РАБОТЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛОРУССКОЙ ССР

В системе Академии Наук БССР организованы и работают микробиологические лаборатории Института мелиорации, водного и болотного хозяйства, Института торфа, Института сельского хозяйства и Института теоретической медицины.

Институт мелиорации, водного и болотного хозяйства

(директор С. П. Скоропанов)

В лаборатории физики и биохимии торфяных почв Института (руков. действ. чл. АН БССР И. С. Лупинович) изучаются химические и микробиологические процессы, протекающие в естественных болотных почвах, и эволюция торфяных почв под влиянием мелиорации и сельскохозяйственного использования.

По теме «Изменение торфяных почв в связи с мелиорацией и сельскохозяйственным их использованием» (Т. Ф. Голуб, Ф. П. Вавуло) работы велись на трех болотных массивах БССР: Минском, Коссовском (Брестской области) и Василевическом (совхоз «Ведричь» Полесской области). Производились исследования микрофлоры в образцах, взятых на участке естественного болота, вновь освоенного, и старопахотного поля по профилю почвенного разреза на глубину до одного метра.

Изучалось общее количество микроорганизмов, неспоровые и споровые формы, грибы и актиномицеты, целлюлозоразрушающие микроорганизмы, нитрифицирующие, денитрифицирующие, азотфиксирующие и другие группы бактерий. Низинные торфа Минской станции, совхоза «Ведричь» и Коссовской станции в достаточной мере богаты микроорганизмами. Обильно представлены бактерии, в несколько меньшем числе актиномицеты и еще более бедно представлены плесневые грибы.

В естественных торфяниках число бактерий в верхних слоях (0—10 см, 10—20 см) выражается 2—5 миллионами на 1 г сухой почвы. По профилю наиболее богато обсеменен слой торфяной почвы 0—20 см. В теплое время года более глубокие слои имеют свыше 1 млн. бактерий. При мелиорации на неосвоенном участке в почве заметно углубляется биогенный слой. На старопахотных торфяных почвах данное углубление вырисовывается также в достаточной мере заметно.

В отдельные сроки анализов обсемененность бактериями различных слоев почвы существенно колеблется. Так, в торфяной почве естественного болота Коссовской станции сапрофитов меньше, чем в почве естественного болота совхоза «Ведричь». Но, поскольку участок Коссовской станции более дренирован, значительное число микроорганизмов обнаруживается до глубины 40 см.

Среди бактерий почв на Коссовской станции отмечается большое количество желтопигментных форм, что может быть связано с относительно малым процессом минерализации.

По общему количеству бактерий верхние слои торфяной почвы совхоза «Ведричь», как естественные, так и старопахотные, существенно не отличаются. Дренирование, а тем более вспашка почв, вызывает заметное увеличение числа бактерий.

В целинных торфяниках содержится значительное число бациллярных форм. В значительной части вегетационного периода большинство бактерий неокультуренных торфяников находится в состоянии спор, в результате чего отмечается слабое развитие минерализационных процессов. При мелиорации и особенно при распашке снижается количество как бациллярных форм, так и процентное соотношение их к общему числу бактерий.

Таким образом, усиление мобилизационных процессов наглядно выявляется в соотношении общего числа бактерий к числу спор, находящихся в почве.

Из спороносных форм в целинных торфяниках наиболее богато представлены Bac. cereus, Bac. idosus, B. megaterium.

В целинных торфах B. mycoides и B. mesentericus встречаются в очень малом числе. В почвах Коссовской станции, в отличие от болотного массива совхоза «Ведричь», количество пленчатых форм меньше, что является показателем большой бедности данных почв питательными веществами. В мелиорированных и окультуренных торфяных почвах обычно снижается число пленчатых бактерий (Bac. idosus) и весьма часто отмечается уменьшение. Б. cereus. В большинстве случаев (особенно

во второй половине лета) возрастает количество Bac. mycoides. В количестве микроорганизмов остальных групп существенных сдвигов не обнаружено.

Состав бациллярных форм всех проанализированных торфяников существенно не отличается от состава этих форм в слабо минерализованных почвах.

В торфяниках довольно богато представлена микрофлора, разрушающая клетчатку. В основном эти микроорганизмы находятся в слое 0—20 см. В более глубоких слоях они встречаются в меньшем числе. При мелиорировании и окультуривании слой, содержащий активную целлюлозоразрушающую микрофлору, значительно увеличивается. Из целлюлозных микроорганизмов в торфяных почвах в значительных количествах обнаруживаются Cytophaga в торфяниках совхоза «Ведричь», грибы из рода Dematium в почвах Коссовской станции, Trichoderma, пикнидиальные грибы.

В более глубоких слоях часто встречаются актиномицеты и миксобактерии — Polyangium. В почвах Коссовского болотного массива преобладающим видом из целлюлозных микроорганизмов является Dematium. Это служит дополнительным подтверждением меньшей агрономической ценности данных почв по сравнению с почвами совхоза «Ведричь».

Нитрифицирующие бактерии в целинном торфе совхоза «Ведричь» проявляют некоторую активность лишь в летний период. Весной и осенью процесс нитрификации подавлен. В отличие от почвы естественного болота совхоза «Ведричь», в целинном участке болота Коссовской станции отмечается развитие нитрификаторов, что связывается, по всей видимости, с опусканием грунтовых вод в связи с дренированием всей территории. В мелиорированных и освоенных торфяниках нитрифицирующие бактерии развиваются энергично.

В естественных и мелиорированных торфах на обоих болотных массивах спорадически встречается азотобактер.

В целинных торфяниках на мелиорированных участках обнаруживается значительное число актиномицетов (от 1,5 до 2,5 миллионов на 1 г почвы), но меньше, чем бактерий. В летний период в почвах наблюдается больше актиномицетов, чем осенью; сосредоточены они в верхних слоях.

Плесневые грибы в торфяных почвах, как в окультуренных, так и неокультуренных торфяниках, содержатся в относительно большем количестве, чем в минеральных почвах. Их число варьирует в течение вегетационного периода, достигая в отдельных случаях в верхних слоях до нескольких тысяч зародышей на 1 г почвы. Из грибов наиболее часто встречаются виды Penicillium, Mucor, Trichoderma, Cladosporium и др. В целинных почвах преобладающим является Trichoderma.

За два года исследований накоплен материал, который позволит в дальнейшем разработать методы воздействия на протекающие в почве процессы с целью ускорения окультивирования торфяных почв и резкого повышения их плодородия.

По теме «Влияние бактериальных удобрений на урожай ряда сельскохозяйственных культур на низинных торфяных почвах» исследования проводились в 1946—1949 гг. методом полевого и вегетационного опытов.

На основании данных за 4 года можно отметить положительное влияние азотогена в низинных торфяных почвах на урожай овса, ячменя, яровой пшеницы, клевера красного, розового и белого, кок-сагыза, сахарной свеклы, сараделлы и картофеля.

Нитрагин повышает урожай клевера в год посева; триходерма повышает урожай и качество сахарной свеклы, ячменя и пшеницы. Некоторое увеличение урожая кок-сагыза и овса получено от применения фосфоробактерина.

В 1949 г. проводилось испытание местных штаммов азотобактера, выделенных из торфяных почв. Некоторые из местных штаммов азотобактера повышают урожай овса и яровой пшеницы от 10 до 24% в полевом опыте и урожай ветвистой пшеницы в вегетационном опыте до 70%.

Институт социалистического сельского хозяйства

(директор Д. И. Лаппо)

Лаборатория микробиологии института занимается изучением микрофлоры почв Полесской низменности; микробиологических процессов при внесении торфа как удобрения в почву, явлений антагонизма почвенных микроорганизмов по отношению к некоторым фитопатогенным бактериям (Ps. campestris, Ps. phaseoli).

По теме «Микрофлора почв Полесской низменности» (А. И. Езупчик) собран материал, полученный в период экспедиций 1948 и 1949 гг., по распространению некоторых физиологических групп микроорганизмов по генетическим горизонтам в зависимости от почвенной разности и растительного покрова лесных и пахотных почв разной степени окультуренности. Исследования проводятся на следующих типах почв Полесской низменности: 1) Дерново-перегнойно-глеевые; 2) торфяно-перегнойно-глеевые; 3) дерново-подзолистые; 4) дерново-подзолисто-глеевые; 5) дерново-перегнойно-карбонатные; 6) дерново-перегнойно-оруштейновые.

Количество микроорганизмов в этих почвах неодинаково. Больше всего их имеется в почвах и дерновых (перегнойно-карбонатных) торфянисто-перегнойно-глеевых. В дальнейшем полученный материал будет дополнен данными, которые позволят выяснить микробиологические особенности, и каждого из перечисленных и других видов почв

Полесской низменности с целью разработки мероприятий по управлению биохимическими процессами почв и поднятия их плодородия.

В другой работе производился учет отдельных физиологических групп микроорганизмов при изготовлении различных торфонавозных компостов (щелочных). Внесение щелочи в компосты преследует цели усилить предварительную минерализацию торфа и сделать гумусовые соединения торфа более подвижными при внесении компостов в почву и т. д. При этом изучалось действие различных доз и видов щелочей при изготовлении компостов на развитие отдельных физиологических групп бактерий, как в самых компостах, так и при внесении их в почву.

В результате исследований установлено, что особенно усиливается жизнедеятельность микроорганизмов при внесении в почву торфонавозных компостов с Na_2CO_3.

Е. И. Гуринович изучала некоторые свойства фитопатогенных бактерий, которые могут быть испсльзованы для систематики их. Проведено детальное изучение серологических свойств трех представителей рода псевдомонас и доказана антигенная близость Ps. malvacearum и Ps. phaseoli.

Исследования Е. С. Гуринович доказывают способность изученных штаммов фитопатогенных бактерий рода псевдомонас обусловливать при иммунизации кроликов выработку антител, реагирующих с гомологическими антигенами, как и реакции агглютинации, так и реакции связывания комплемента. По данным опытов прямой агглютинации и реакции адсорбции штаммы Ps. phaseoli и Ps. malvacearum являются весьма близкими в антигенном отношении. Различие в характере агглютината при склеивании Pseudomonas phaseoli (крупно-хлопчатый осадок) и Pseudomonas malvacearum (мелко-зернистый осадок) позволяет предположить особенности структуры соматического и жгутикового антигенов этих видов. Pseudomonas campestris характеризуется видовой серологической специфичностью, позволяющей с помощью иммунных реакций отдифференцировать этого микроба от Ps. phaseoli и Ps. malvacearum.

В Институте торфа изучаются микробиологические процессы при разогревании торфа с целью разработки мероприятий по борьбе с самовозгоранием (Н. М. Курбатова).

Институт теоретической медицины

(директор Н. И. Гращенков)

Основной проблемой Микробиологической лаборатории этого института является изучение вопросов микробиологии и эпидемиологии склеромы. Эта проблема, как важнейшая в краевой патологии БССР, разрабатывается комплексно с другими научно-исследовательскими институтами и клиниками медицинских институтов БССР.

Изучены вопросы бактериологической диагностики склеромы, клиническое значение серологических реакций, химия и биохимия палочки склеромы, явления изменчивости в связи с биохимической характеристикой капсулированных и бескапсульных форм микроба, влияние стрептомицина на жизнедеятельность склеромной палочки в организме лабораторных животных. Эпидемиология склеромы изучалась методами экспедиционных выездов в очаги заболевания. Полученные за последние годы материалы отражены в научных сборниках и монографиях Б. Я. Эльберта и его сотрудников.

Научно-практический интерес представляют исследования по систематике микробов семейства Enterobacteriaceae, по разработке методов культивирования микробов тифозно-дизентерийной группы для ускоренной диагностики и по биологии Ps. pyocyanea (А. Б. Черномордик).

Вопросами изучения антибиотиков и химиопрепаратов занимались Лаборатория по антибиотикам (Ф. И. Эльперина) и Лаборатория проф. А. Я. Прокопчука.

Вирусологическая лаборатория функционирует с 1949 г. В 1949 г. изучались вопросы вирусологии полиомиелита, клещевого энцефалита, лимфоцитарного менингита и биологических связей вируса клещевого и шотландского энцефалита.

Лаборатория по изучению вирусологии гриппа (Р. П. Кухаренко) проводила исследования по культивированию вируса гриппа в куриных зародышах и лабораторной диагностике гриппа в БССР.

Большая помощь, оказываемая микробиологическим лабораториям АН БССР институтами Академии Наук СССР и Академией медицинских наук, позволит в дальнейшем направить усилия белорусских микробиологов и вирусологов на еще более успешное выполнение стоящих перед нами задач по дальнейшему подъему народного хозяйства и улучшению постановки дела здравоохранения в БССР.

Б. Я. Эльберт

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

И. Л. Работнова, М. В. Улубекова и Л. В. Магнитская. Денитрификация за счет битума и других углеводородов 401

Л. А. Розенберг. Физико-химические условия бактериального осаждения кальция 410

А. А. Имшенецкий и Л. И. Солнцева. Термофильные пектиновые бактерии 418

И. М. Шаинская. Изменчивость уксуснокислых бактерий Bact. Schüzenbachii 426

М. Н. Тульчинский. Протеолиз пшеничной муки молочнокислыми бактериями теста 434

Ю. И. Рубинштейн. Биохимические свойства культур фузариум (секция Sporotrichiella) 438

Е. Т. Дикасова. Влияние вируса желтухи на жизнеспособность тутового шелкопряда 444

К. И. Рудаков. Клубеньковые бактерии (1945—1949) (Обзор) 449

Д. М. Новогрудский. Материалы по истории почвенной микробиологии. Очерк второй 459

Критика и библиография 472

Хроника 477

Т-06389 Подписано к печати 12.IX 1950 г. Формат бум. $70 \times 108^1/_{16}$. Бум. л. $2^1/_2$.
Печ. л. 6,85 + 2 вклейки Уч.-изд. л. 7,7 Тираж 5000 экз. Заказ 505

2-я типография Издательства Академии Наук СССР. Москва, Шубинский пер., д. 10

Цена 9 руб.